

**Charakterisierung des räumlich-zeitlichen Musters von
Spreading Depolarisation mittels simultaner ECoG und MEG
- eine tierexperimentelle Untersuchung**

DISSERTATION

zur Erlangung des akademischen Grades
doctor medicinae (Dr. med.)

vorgelegt dem Rat der Medizinischen Fakultät
der Friedrich-Schiller-Universität Jena

von Sabrina Winges
geboren am 27. September 1981 in Eisenach

Gutachter:

1. PD Dr. Michael Eiselt, FSU Jena
2. Prof. Dr. Frank Richter, FSU Jena
3. Prof. Dr.-Ing. habil. Jens Haueisen, TU Ilmenau

Tag der öffentlichen Verteidigung: 07.04.2015

Für Norman

Inhaltsverzeichnis

INHALTSVERZEICHNIS	I
ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS	V

ZUSAMMENFASSUNG	VII
------------------------	------------

1. EINLEITUNG	1
----------------------	----------

1.1. Spreading Depression	1
----------------------------------	----------

1.1.1. Geschichte	1
-------------------	---

1.1.2. Spreading Depression und Spreading Depolarisation	2
----------------------------------------------------------	---

1.1.3. Elektrophysiologische Eigenschaften	3
--------------------------------------------	---

1.2. Eigenschaften von Neuronen und Gliazellen	4
-------------------------------------------------------	----------

1.2.1. Biophysikalische Eigenschaften der Neurone	4
---------------------------------------------------	---

1.2.2. Biophysikalische Eigenschaften der Neuroglia	4
-----------------------------------------------------	---

1.2.3. Auslöser einer Spreading Depolarisation	6
------------------------------------------------	---

1.3. Entstehungsmechanismen einer Spreading Depolarisation	6
-------------------------------------------------------------------	----------

1.3.1. Änderungen der Ionenhomöostase während Spreading Depolarisation	7
------------------------------------------------------------------------	---

1.4. Propagation der SD-Wellenfront	10
--------------------------------------------	-----------

1.4.1. Abhängigkeit von Gewebeeigenschaften	10
---------------------------------------------	----

1.5. Erfassung von Spreading Depolarisations	11
-----------------------------------------------------	-----------

1.5.1. Elektrokortikographie (ECoG)	11
-------------------------------------	----

1.5.2. Magnetencephalographie (MEG)	12
-------------------------------------	----

1.5.2.1. Physikalisch-technische Grundlagen des MEGs	12
------------------------------------------------------	----

1.5.2.2. MEG zur Erfassung von Spreading Depolarisations	13
----------------------------------------------------------	----

1.6. Zielstellung	15
--------------------------	-----------

2.	MATERIALIEN UND METHODEN	17
2.1.	Vorbereitung und Anästhesie der Versuchstiere	17
2.2.	Präparation	18
2.3.	Erfassung der Messdaten	19
2.3.1.	Elektrokortikographie (ECoG)	19
2.3.2.	Magnetencephalographie (MEG)	20
2.3.3.	Aufzeichnung der Messdaten	21
2.4.	Stimulation der Kortexoberfläche mittels Kaliumchlorid	22
2.5.	Stimulation mittels Reizelektroden	23
2.6.	Auswertung des Elektrokortikogrammes	24
2.6.1.	Kriterien einer Spreading Depolarisation im Elektrokortikogramm	24
2.6.2.	Basislinienkorrektur/Lineare Trendelimination und Artefaktelimination	25
2.6.3.	Beschreibung der Propagation der SD-Wellenfront im Elektrokortikogramm	26
2.6.3.1.	Zeitliche und räumliche Propagation nach kaudaler, lateraler und rostraler Reizung	28
2.6.4.	Ermittlung der Propagationsgeschwindigkeit	29
2.6.5.	Festlegung des ECoG-Signalbereiches	30
2.7.	Auswertung des Magnetencephalogrammes	31
2.7.1.	Datenvorverarbeitung	31
2.7.2.	Spreading Depolarisation-assozierte Magnetfeldveränderungen	32
2.7.3.	Mittlere globale Magnetfeldstärke (MGFP)	33
2.7.4.	Festlegung des MEG-Signalbereiches anhand der MGFP	33
2.7.5.	Hauptkomponentenanalyse	34
3.	ERGEBNISSE	36
3.1.	Eigenschaften der Spreading Depolarisations im Elektrokortikogramm	36
3.1.1.	Maximale Depolarisationsamplituden im Elektrokortikogramm	37
3.1.2.	SD-Ausbreitung – zeitliche und räumliche Muster im Elektrokortikogramm	38
3.1.3.	Propagationsgeschwindigkeiten unter dem Elektrodenarray	39
3.2.	Eigenschaften der Spreading Depolarisation im Magnetencephalogramm	40
3.3.	SD in Abhängigkeit vom Reizort	41

3.3.1. Spreading Depolarisation nach kaudaler Stimulation mit KCl und elektrischer Reizung	41
3.3.1.1. Spreading Depolarisations im 16-Kanal-Elektrokortikogramm	42
3.3.1.2. SD-Ausbreitung - zeitliche und räumliche Muster anhand des 50%-Wertes im Elektrokortikogramm	43
3.3.1.3. Maximale Depolarisationsamplituden	49
3.3.1.4. MEG-Signal nach kaudaler KCl- und elektrischer Reizung	51
3.3.2. Spreading Depolarisations nach lateraler elektrischer Reizung	54
3.3.2.1. Spreading Depolarisations im Elektrokortikogramm	54
3.3.2.2. Zeitliche und räumliche Ausbreitung der Spreading Depolarisations im Elektrokortikogramm	55
3.3.2.3. Maximale Depolarisationsamplituden	57
3.3.2.4. MEG-Signal nach lateraler elektrischer Reizung	58
3.3.3. SD nach rostraler elektrischer Reizung	59
3.3.3.1. Spreading Depolarisations im Elektrokortikogramm	59
3.3.3.2. SD-Ausbreitung im Elektrokortikogramm anhand des 50%-Wertes	60
3.3.3.3. Maximale Depolarisationsamplituden	62
3.3.3.4. MEG-Signal nach rostraler elektrischer Reizung	63
3.4. Zeitliche Beziehungen der simultan erfassten ECoG- und MEG-Veränderungen bei Spreading Depolarisations	64
3.4.1. Kaudale Reizung	64
3.4.2. Laterale Reizung	70
3.4.3. Rostrale Reizung	71
4. DISKUSSION	73
4.1. Allgemeine Eigenschaften der Spreading Depolarisations im ECoG	74
4.1.1. Propagation der Spreading Depolarisations im ECoG	75
4.1.2. Propagationsgeschwindigkeiten im ECoG	76
4.2. Propagationsmuster in Abhängigkeit vom Reizort	76
4.3. Maximale Depolarisationsamplituden im ECoG nach kaudaler, lateraler und rostraler Reizung	80
4.4. Spreading Depolarisations nach kaudaler KCl- und elektrischer Reizung	82
4.4.1. Spreading Depolarisations im Elektrokortikogramm	83
4.4.2. Maximale Depolarisationsamplituden	84
4.4.3. Räumliche und zeitliche Propagation im Elektrokortikogramm	84
4.5. Allgemeine Eigenschaften der SD-assozierten MEG-Veränderungen	85

4.5.1. Verlaufsmuster der MGFP mit einem und zwei Signalpeaks	85
4.5.2. MEG-Verläufe ohne signifikanten MGFP-Anstieg	88
4.6. Zeitliche Beziehungen der Veränderungen im ECoG und MEG	88
4.6.1. Zeitliche Beziehungen der ECoG- und MEG-Veränderungen nach kaudaler Reizung	88
4.6.2. Zeitliche Beziehungen der ECoG- und MEG-Veränderungen nach lateralen und rostralen Reizung	90
4.7. Erkenntnisse aus simultaner ECoG- und MEG-Messung	91
4.8. Methodenkritische Diskussion	92
4.9. Schlussfolgerung	94
5. LITERATURVERZEICHNIS	96

DANKSAGUNG

LEBENS LAUF

EHRENWÖRTLICHE ERKLÄRUNG

Abkürzungsverzeichnis

Abb.	Abbildung
ABE	actual base excess (Basenüberschuss)
Ag/AgCl	Silber/Silberchlorid
ATP	Adenosintriphosphat
Ca²⁺	Kalziumionen
[Ca²⁺]	Kalziumionenkonzentration
Cl⁻	Chloridionen
[Cl⁻]	Chloridionenkonzentration
cm	Zentimeter
E	Elektrode
ECoG	Elektrokortikogramm/Elektrokortikographie
EEG	Elektroencephalogramm/Elektroencephalographie
EPSP	erregendes postsynaptisches Potential
et al.	et alii (und andere)
ex	extrazellulär
fT	Femtotesla
HCO₃⁻	Bikarbonat
Hz	Hertz
in	intrazellulär
K⁺	Kaliumionen
[K⁺]	Kaliumionenkonzentration
KCl	Kaliumchlorid
kg	Kilogramm
mA	Milliampere
MEG	Magnetencephalogramm/Magnetencephalographie
MGFP	mean global field power (mittlere globale Magnetfeldstärke)
min	Minute
μV	Mikrovolt
mm	Millimeter
mmol	Millimol
mV	Millivolt

MW ± SD	Mittelwert ± Standard deviation (Standardabweichung)
Na⁺	Natriumionen
[Na⁺]	Natriumionenkonzentration
NaCl	Natriumchlorid
Na-K-ATPase	Natrium-Kalium-ATPase
Na-K-Pumpe	Natrium-Kalium-Pumpe
NMDA	N-methyl-D-aspartat
pCO₂	Kohlendioxidpartialdruck
pO₂	Sauerstoffpartialdruck
P/Q	P/Q-Typ-Kalziumkanal (in Purkinje-Zellen)
pT	Picotesla
s/sec	Sekunde
SD	Spreading Depolarisation/Standard deviation (Standardabweichung)
sO₂	Sauerstoffsättigung
SQUID	Superconducting QUantum Interference Device
Tab.	Tabelle
TEA⁺	Tetraethylammonium
TMA⁺	Tetramethylammonium
TTX	Tetrodotoxin
Vol%	Volumenprozent
ZNS	Zentralnervensystem

Zusammenfassung

Das wissenschaftliche Interesse an Spreading Depolarisation (SD) ist insbesondere seit dem Nachweis am Menschen stetig gestiegen, nicht zuletzt weil ihr eine Bedeutung bei neurologischen Erkrankungen, z.B. der Migräneaura oder der zerebralen Ischämie, beigemessen wird. Trotz intensiver Forschung in den letzten Jahrzehnten sind die zugrunde liegenden Mechanismen, die u.a. von massiven Veränderungen der lokalen Ionenhomöostase begleitet werden, bis heute nicht im Detail geklärt. Eine differenzierte Analyse des zeitlichen und räumlichen Propagationsmusters einer SD unter Berücksichtigung der kortikalen Morphologie wurde bisher nur vereinzelt vorgenommen. In der vorliegenden Arbeit werden Propagationsmuster einer SD in Abhängigkeit von der lokalen Histologie beschrieben und deren Dynamik durch simultane Erfassung im 16-Kanal-Elektrokortikogramm und 16-Kanal-Magnetencephalogramm analysiert.

Messungen wurden bei zehn Ratten nach kortikaler KCl-Applikation oder tetanischer elektrischer Stimulation durchgeführt. Um die Abhängigkeit der Propagation vom Auslösungsort zu untersuchen, wurden SDs im kaudalen, lateralen oder rostralen Kortex ausgelöst. Dabei konnten folgende Resultate gewonnen werden:

- 1) Sowohl nach KCl- als auch nach tetanisch elektrischer Reizung wurden SDs erfasst, die hinsichtlich ihres Potentialverlaufs sowie ihrer Propagationsmuster im ECoG vergleichbar waren.
- 2) Nach kaudaler bzw. rostraler Reizung zeigten sich im ECoG inter- und intraindividuell sehr komplexe, stark variierende Propagationsmuster mit häufig wechselnder Orientierung der SD-Wellenfront in kaudo-rostrale bzw. rostro-kaudale Richtung. Dabei fand sich häufig eine latero-mediale oder medio-laterale Ausrichtung der SD-Wellenfront. In dieser Arbeit konnten keine Indikatoren ermittelt werden, die frühzeitig auf ein bestimmtes Propagationsmuster hinwiesen. Hingegen konnte nach lateraler Reizung eine relativ gleichförmige Propagation in latero-mediale Verlaufsrichtung beschrieben werden.
- 3) Unabhängig vom Reizort der SD war das Ausmaß der Depolarisation häufig in den lateralen Kortexabschnitten am stärksten. Die Amplitudenwerte im Bereich des Elektrodenarrays wiesen bei allen Reizorten eine große Variabilität auf. Die

zunehmende Entfernung vom Reizort war nicht zwingend mit einer Reduktion der Depolarisationsamplitude verbunden.

- 4) Bei 31 der 38 Ereignisse konnten SD-assoziierte MEG-Veränderungen beschrieben werden. In 21 dieser 31 Ereignisse zeigten sich signifikante Änderungen der mittleren globalen Magnetfeldstärke (MGFP), die summarisch MEG-Veränderungen beschreibt und durch einen ein- oder zweigipfligen Verlauf gekennzeichnet war. Am häufigsten (n=12) wurden MGFP-Verlaufsmuster mit zwei Signalpeaks beobachtet.
- 5) Für das ECoG bzw. MEG wurden Signaltbereiche definiert, in denen jeweils signifikante Veränderungen messbar waren. Die Analyse der zeitlichen Beziehungen dieser Signaltbereiche zeigte, dass die SD-Ereignisse über einen bestimmten Zeitraum gleichzeitig durch beide Verfahren erfasst werden konnten. In Abhängigkeit von der Distanz Reizort – Elektrodenarray signalisierten entweder das MEG oder das ECoG zuerst das Auftreten einer SD.
- 6) Das Auftreten der MGFP-Signalpeaks stand in keiner festen zeitlichen Beziehung zu den ECoG-Signaltbereichen; diese Signalpeaks wurden vor, während oder nach dem ECoG-Signaltbereich gemessen. Den unterschiedlichen Propagationsmustern im ECoG konnten keine spezifischen MGFP-Signalverläufe zugeordnet werden, wobei auch bei weitestgehend identischen ECoG-Mustern MGFP-Verläufe mit ein bzw. zwei Peaks beschrieben werden konnten.

Ursächlich für die gleichförmige bzw. ungleichförmige Propagation muss in erster Linie die lokale Morphologie der von der SD-Welle erfassten kortikalen Strukturen in Betracht gezogen werden. Allein hierdurch lässt sich jedoch die intra- und interindividuelle Variabilität nicht ausreichend erklären. Die vorliegenden Resultate lassen aufgrund des stärkeren Ausmaßes der Depolarisation im lateralen Kortex vermuten, dass der laterale Kortex für eine SD-Propagation günstigere Bedingungen liefert. Die Variabilität der ECoG-Propagationsmuster spiegelt sich auch in den verschiedenen MGFP-Verläufen der MEG-Veränderungen wider. Hinsichtlich der ECoG- und MEG-Signaltbereiche weisen alle Ereignisse Zeitintervalle auf, in denen gleichzeitig elektrische und magnetische Veränderungen messbar waren, so dass der Prozess durch beide Verfahren erfasst werden kann. Dabei werden im MEG jedoch Prozesse erfasst (ein oder zwei Peaks), die keine Entsprechung im ECoG haben. U.a. deshalb ist eine umfassende Charakterisierung der SD-Ereignisse nur durch simultane Anwendung von ECoG und MEG möglich.

1. Einleitung

Spreading Depressions bzw. Spreading Depolarisations gewinnen stetig an Bedeutung, nicht zuletzt, weil sie in der Pathogenese häufiger neurologischer Erkrankungen eine Rolle zu spielen scheinen. Der Physiologe Leão entdeckte dieses Phänomen 1944 und beschrieb die Spreading Depression als vorübergehende, sich wellenförmig über den Kortex ausbreitende Reduktion der hirnelektrischen Aktivität (Leão 1944). Die Ausbreitungsgeschwindigkeit von 2-5 mm/min ähnelte derer eines Skotoms während der visuellen Migräneaura, die erstmals durch Lashley 1941 beschrieben wurde (Lashley 1941). 1958 postulierte Milner einen möglichen Zusammenhang zwischen Spreading Depression und Migräneaura (Milner 1958), was in weiteren Studien aufgegriffen wurde (Gardner-Medwin 1981, Lauritzen et al. 1983, Lauritzen 1994). Elektrophysiologische Gemeinsamkeiten wie z.B. die Ausbreitungsgeschwindigkeit oder lokale Blutflussänderungen konnten hierbei konstatiert werden. Daher ist die Spreading Depression bis heute als neurophysiologisches Korrelat der Migräneaura eine weitestgehend akzeptierte und vielfach belegte Hypothese (Richter und Lehmenkühler 2008, Ayata 2010). Neben der Migräne werden Spreading Depolarisations in der Pathogenese der zerebralen Ischämie in Form von Periinfarktdepolarisationen (Nedergaard and Hansen 1993, Back et al. 1994a) oder der Epilepsie (Petsche et al. 1973, Balestrino et al. 1999, Gorji et al. 2001) diskutiert. Strong et al. gelang 2002 schließlich der Nachweis beim Menschen im Rahmen traumatischer Hirnverletzungen unter Anwendung der Elektrokortikographie (Strong et al. 2002).

Trotz intensiver Forschung in den letzten Jahrzehnten sind die zugrunde liegenden Mechanismen bis heute nicht hinreichend geklärt. Die vorliegende Arbeit soll einen Beitrag zur räumlichen und zeitlichen Ausbreitung von Spreading Depolarisations unter Anwendung der simultanen 16-Kanal-Elektrokortiko- und 16-Kanal-Magnetencephalographie am Modell der Ratte leisten.

1.1. Spreading Depression

1.1.1. Geschichte

Im Rahmen von Untersuchungen zur experimentellen Epilepsie am Kaninchenmodell beobachtete der brasilianische Physiologe Leão 1944 erstmals eine Reduktion der elektrischen Spontanaktivität, die im ECoG anhand einer deutlichen Amplitudenabnahme messbar war. Er prägte daher den Begriff „spreading depression of electroencephalographic activity“, kurz

Spreading Depression (Leão 1944). Dabei entdeckte er, dass die verminderte hirnelektrische Aktivität von einer Depolarisationswelle begleitet wird, die mit einer Negativierung des kortikalen Potentials einhergeht. Die elektrischen Potentialveränderungen breiteten sich mit einer Geschwindigkeit von 2-5 mm/min über den Kortex einer Hemisphäre aus. Bereits Leão postulierte 1944, dass die Potentialverschiebung in der massiven Depolarisation von Neuronen begründet sei (Leão 1944).

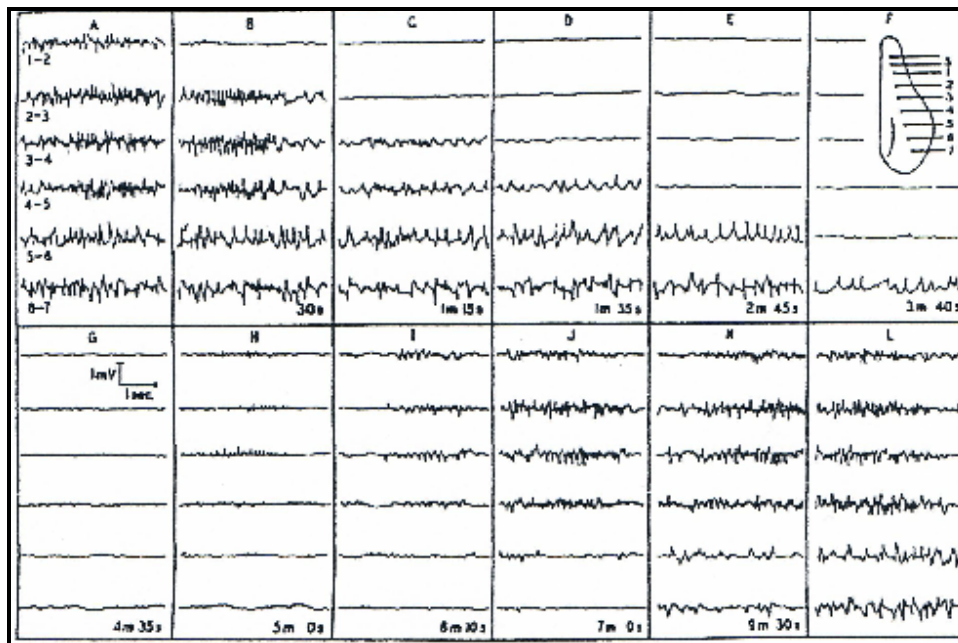


Abb. 1.1: Leão's Originalillustration einer Spreading Depression von 1944: Eine räumlich und zeitlich aufgelöste elektrokortikographische Ableitung vom Kaninchenkortex nach elektrischer Stimulation. Das Schema rechts oben zeigt die Positionen der Stimulations- und Ableitelektroden (nach Leão 1944).

1.1.2. Spreading Depression und Spreading Depolarisation

Die Spreading Depression basiert auf einer Reduktion der elektrischen Aktivität, die sich im Elektrokortikogramm (ECoG) im Bereich von $> 0,5$ Hz ableiten lässt und eine Folge der Spreading Depolarisation (SD) darstellt. Die Verminderung der neuronalen Spontanaktivität, die im EEG bzw. ECoG als Amplitudenabnahme sichtbar ist, scheint in der reduzierten neuronalen Erregbarkeit infolge der starken Depolarisation begründet zu sein. Als Ursache werden u.a. das Öffnen von Na^+ -Kanälen, aber auch NMDA-gesteuerten Kanälen oder Ca^{2+} -sensitiven Kationenkanälen, diskutiert, die eine lang anhaltende und fast vollständige Depolarisation von Neuronen bewirken (Dreier et al. 2013).

Die Spreading Depolarisation beschreibt die extrazelluläre Potentialänderung, die infolge der Depolarisation von Neuronen entsteht und im Bereich von $< 0,05$ Hz gemessen werden kann (Dreier et al. 2013). Die Begriffe werden bis heute häufig synonym verwendet, obgleich ihnen unterschiedliche Prozesse zugrunde liegen. In der vorliegenden Arbeit sollen die räumlichen und zeitlichen Ausbreitungsmuster von Spreading Depolarisations beschrieben werden. In Vorarbeiten der Arbeitsgruppe konnte gezeigt werden, dass die Propagation der Depolarisationswelle mit einer Suppression der hirnelektrischen Aktivität auch bei den in dieser Arbeit genutzten Tiermodelle einhergeht.

1.1.3. Elektrophysiologische Eigenschaften

Spreading Depolarisations (SDs) sind durch eine negative Verschiebung des extrazellulären Potentials um 2-3 mV/sec gekennzeichnet (Kraig and Nicholson 1978). Daraus ergibt sich die Möglichkeit eine SD elektrophysiologisch zu messen. In vorangegangenen Studien konnten Potentialänderungen von -25 mV erfasst werden (Kraig and Nicholson 1978), wobei diese ein Summenmaß für die massive Depolarisation zahlreicher Neurone darstellen (Dreier et al. 2013). Im Anschluss an die Depolarisation, die von 1-3 Minuten Dauer sein kann (Leão 1947), folgt eine absolute Refraktärperiode von ca. 2 Minuten, in der auch bei überschwelligem Reizen keine neuen SDs ausgelöst werden können (Brand et al. 1998). Da sich die Depolarisation ausbreitet, folgt ihr also auch räumlich ein absolut refraktärer Bereich. In einer relativen Refraktärperiode von ca. 20 Minuten können zwar erneute Depolarisationen gemessen werden, die sich jedoch u.a. in ihrer Ausbreitungsgeschwindigkeit stark von denen im wieder vollständig erregbaren Gewebe unterscheiden (Gorelova and Bures 1983, Brand et al. 1998). Erst nach ca. 15-20 Minuten hat sich das Gewebe vollständig erholt (Leão 1944, Brand et al. 1998). Die SD ist somit ein reversibler Prozess, der im gesunden neuronalen Gewebe keine Schäden hervorruft (Nedergaard and Hansen 1988, Somjen et al. 1992).

Die SD wird von starken, intrakortikalen Strömen, hauptsächlich an den Dendriten der Pyramidenzellen, begleitet, die aufgrund der Ausrichtung der Pyramidenzellen im Kortex senkrecht zur Hirnoberfläche verlaufen (Ochs 1962, Okada et al. 1988).

1.2. Eigenschaften von Neuronen und Gliazellen

1.2.1. Biophysikalische Eigenschaften der Neurone

Plasmamembranen trennen den Intra- und Extrazellularraum der Neurone und besitzen eine selektive Permeabilität für Ionen. Zur Aufrechterhaltung des Membranpotentials werden mit Hilfe der Na-K-ATPase ständig Ionen über die Membran gepumpt. Das Potential der Flüssigkeit, in der sich die Neurone befinden, beträgt nahe Null, so dass das intrazelluläre Potential relativ zur extrazellulären Flüssigkeit gemessen wird (Baysal and Haueisen 2002). Pyramidenzellen besitzen ein Ruhemembranpotential von -50 bis -80 mV. Alle Erregungen, die über die Synapse die Nervenzelle erreichen, bewirken in einem umschriebenen Bereich der Zelle eine Änderung des intrazellulären Potentials. Aufgrund der Spannungsänderung entsteht ein Stromfluss, der sich entlang der Zellmembran ausbreitet.

Die erregenden postsynaptischen Potentiale (EPSPs) der Dendriten von Pyramidenzellen machen die Hauptquelle der Potentialschwankungen aus, die im EEG bzw. ECoG messbar sind.

1.2.2. Biophysikalische Eigenschaften der Neuroglia

Lange Zeit wurde den von Virchow entdeckten Gliazellen des neuronalen Gewebes lediglich eine Stütz- und Ernährungsfunktion zugeschrieben. Heute ist bekannt, dass diese maßgeblich an der Regulation der extrazellulären Ionenhomöostase in der Umgebung von Neuronen beteiligt sind (Somjen et al. 2008) und somit die Erregbarkeit von benachbarten Neuronen modifizieren. Gliazellen sind in der Lage, überschüssige Ionen im Extrazellularraum, v.a. Kalium, zu puffern (Somjen et al. 2008, Dietzel et al. 1989). Diese „Clearance-Funktion“ in Nachbarschaft aktivierter Neurone, die u.a. einem Anstieg der extrazellulären Kaliumkonzentration entgegenwirkt, dient letztlich dem Schutz der Neurone vor einer Übererregbarkeit (Walz and Wuttke 1989). Bereits 1966 stellten Kuffler et al. einen Zusammenhang zwischen der Funktion der Neuroglia und einer erhöhten extrazellulären Kaliumkonzentration her (Kuffler et al. 1966). Die Membran der Gliazellen weist eine hohe Selektivität für Kalium auf und reagiert aufgrund ihrer guten Kaliumleitfähigkeit sensibler als jede andere Zelle auf extrazelluläre Kaliumschwankungen (Williams 1970). Das Membranpotential der Gliazellen kommt dabei dem Kalium-Gleichgewichtspotential sehr nahe (Somjen 1975, 1979). In Nachbarschaft depolarisierter Neurone können Gliazellen über

verschiedene Mechanismen extrazellulär ansteigenden Kaliumkonzentrationen entgegenwirken. Dabei kann ein deutlicher Anstieg der intrazellulären Kaliumkonzentration mit anschließender Zellschwellung beobachtet werden (Amzica and Steriade 2002, Hertz 1978). Zum einen werden Kaliumionen aktiv über die Na-K-Pumpe, zum anderen passiv über spezifische Kaliumkanäle in den Intrazellularraum aufgenommen (Somjen et al. 2008). Infolge der intrazellulären Akkumulation von Kalium komme es zu einer Verteilung in Regionen niedrigerer Kaliumkonzentrationen durch gap junctions sowie durch Diffusion im Interstitium (Somjen et al. 2008). Bereits Orkand et al. postulierten 1966, dass der Weitertransport von Kalium über gap junctions weitaus effektiver und schneller sei als durch alleinige Diffusion (Orkand et al. 1966, Trachtenberg and Pollen 1969). Die Ionenbewegungen entlang der Zellmembran haben zur Folge, dass ein Strom zwischen den depolarisierten und nichtdepolarisierten Anteilen der Zelle fließt, wobei es aufgrund des Kaliumgradienten zur Entstehung „kreisender Ströme“ zwischen dem Extra- und Intrazellularraum kommt (Gardner-Medwin 1981).

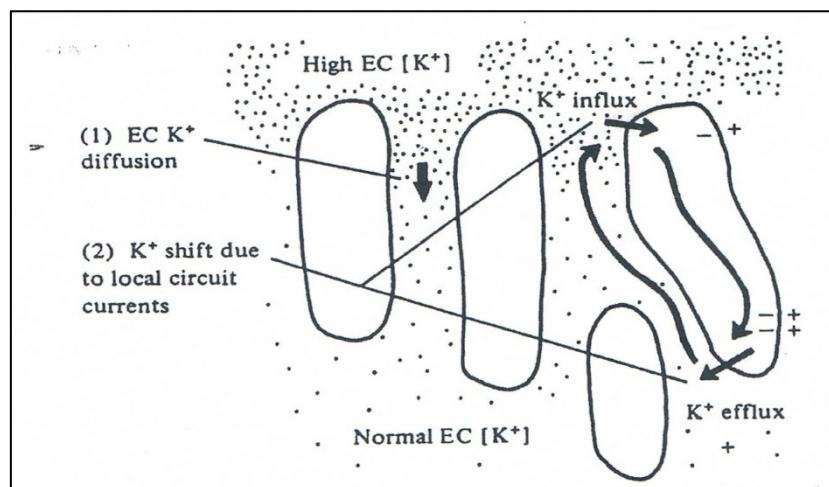


Abb. 1.2: Mechanismen der extrazellulären K^+ -Bewegung. (1) Diffusion von K^+ im Extrazellularraum (EC) (2) K^+ -Einstrom und K^+ -Ausstrom über der Membran von Gliazellen (nach Gardner-Medwin 1981).

Übersteigt die extrazelluläre Kaliumkonzentration jedoch Werte von 10 mmol (Kraig and Nicholson 1978), versagt der Puffermechanismus der Gliazellen, so dass durch die massive Depolarisation von Neuronen und Gliazellen Spreading Depolarisations beobachtet werden können. Somit können Gliazellen durch „Abfangen“ überschüssiger extrazellulärer Kaliumionen einerseits die Propagation einer Spreading Depolarisation verhindern (Somjen

2001); andererseits wird ihnen bei Überschreitung einer bestimmten Schwelle eine führende Rolle in der Entstehung und Propagation einer SD zugeschrieben (Leibowitz 1992). Somit können Gliazellen, v.a. in kortikalen Regionen mit hoher Zelldichte, die Entstehung und Propagation einer SD entscheidend beeinflussen.

1.2.3. Auslöser einer Spreading Depolarisation

Eine Spreading Depolarisation kann durch verschiedene Stimuli am Tiermodell provoziert werden. Dazu gehören elektrische Impulse (tetanische Reizung), mechanische Schädigung des Kortex (z.B. durch Punktion oder Inzision) oder die Applikation verschiedener chemischer Substanzen wie Kaliumchlorid, Glutamat oder N-methyl-D-aspartat-(NMDA) (Somjen 2001). Sie kann jedoch ebenso spontan auftreten (Leão 1944, Van Harreveld and Fífková 1973). Im Kortex der Ratte lässt sich dieses Phänomen im Vergleich zu anderen Spezies oder anderen zentralnervösen Strukturen der Ratte leicht auslösen (Gardner-Medwin 1981), so dass auch in der vorliegenden Studie Untersuchungen am Modell der Ratte vorgenommen wurden.

1.3. Entstehungsmechanismen einer Spreading Depolarisation

Eine Spreading Depolarisation geht mit einer massiven Änderung der extrazellulären Ionenhomöostase einher (s. Kapitel 1.3.1.). Dabei kommt es zu einem Einstrom von Na^+ und Ca^{2+} in die Zelle und einem Ausstrom von K^+ in den Extrazellularraum, der die Depolarisation benachbarter Neurone bewirkt (Gardner-Medwin 1981). Der Anstieg der extrazellulären Kaliumkonzentration wird als wesentlicher Trigger für die Entstehung einer SD diskutiert (Grafstein 1956, Gardner-Medwin 1981). Ursächlich können Störungen des lokalen Energiestoffwechsels mit Versagen der Na-K-Pumpe sein, die zu einer passiven Ionenverteilung zwischen Intra- und Extrazellularraum mit Anstieg der extrazellulären Kaliumkonzentration führen (Dreier et al. 2013). Weiterhin kann es aufgrund einer verminderten Clearance-Funktion der Gliazellen zu einem Überschuss an Kalium im Extrazellularraum kommen, welche die Entstehung einer SD erheblich fördern kann (Somjen 2001). Neben Kalium wird Glutamat als auslösendes Agens für eine SD vermutet (Van Harreveld 1959). Über Aktivierung NMDA-gesteuerter Ionenkanäle führe der Neurotransmitter zur Zelldepolarisation (Van Harreveld 1959, Van Harreveld and Fífková 1973). Die Tatsache, dass NMDA-Rezeptorantagonisten die Initiation und Propagation einer

SD modifizieren, unterstreicht die Bedeutung des NMDA-Rezeptors an der Entstehung einer SD (Lauritzen and Hansen 1992). Letztlich wird die „duale Hypothese“ favorisiert, bei der sowohl Kalium als auch Glutamat am Entstehungsprozess beteiligt sind (Bures et al. 1974, Van Harreveld 1978). Neben Glutamat wurden Aspartat und Katecholamine in zehnfach höherer Konzentration während einer SD nachgewiesen (Scheller et al. 1991, Pavlásek et al. 1993). Zudem scheinen spannungsabhängige Kalziumkanäle („voltage-gated-calcium channels“) eine Rolle zu spielen. In Tierexperimenten konnte eine eingeschränkte Auslösbarkeit sowie eine reduzierte Zahl an Spreading Depressions nach genetischer Veränderung des P/Q – Kalziumkanals nachgewiesen werden (Ayata et al. 2000). Aus neueren Studien geht hervor, dass Genmutationen die Entstehung einer SD begünstigen. Mutationen im CACNA1A-Gen, welches die Untereinheit eines präsynaptischen Kalziumkanals kodiert, im ATP1A2-Gen, welches ein Isoenzym der Na-K-Pumpe kodiert sowie im SCN1A-Gen, das einen Natriumkanal kodiert, führen zu Störungen der lokalen Ionenhomöostase und seien an dieser Stelle genannt (Van den Maagdenberg et al. 2004, Jurkat-Rott et al. 2004, Dichgans et al. 2005).

1.3.1. Änderungen der Ionenhomöostase während Spreading Depolarisation

Kraig und Nicholson zeigten in ihren Versuchen am Zerebellum des Katzenfisches, dass sich nach Auslösung einer SD beträchtliche Änderungen der extrazellulären Konzentrationen für Kalium, Kalzium, Natrium und Chlorid ergeben (Kraig and Nicholson 1978). Während die $[K^+]_{ex}$ deutlich ansteigt, kann ein Abfall der $[Ca^{2+}]_{ex}$, $[Na^+]_{ex}$ und $[Cl^-]_{ex}$ beobachtet werden. Die $[K^+]_{ex}$ steigt dabei von 2-4 mmol auf 20-50 mmol an und erreicht schließlich einen steady state, der etwa eine Minute andauert, bevor die Werte zum Ausgangsniveau zurückkehren (Kraig and Nicholson 1978). Dabei konnten SD-typische Depolarisationen und deren Propagation ab einer $[K^+]_{ex}$ von ca. 10 mmol beobachtet werden. Unterhalb dieses Schwellenwertes konnten kaum Änderungen der Ionenkonzentrationen für $[Ca^{2+}]$, $[Na^+]$ und $[Cl^-]$ im Extrazellulärraum gemessen werden (Kraig and Nicholson 1978). Die Rolle spannungsgesteuerter Kaliumkanäle wurde mit Hilfe des K^+ -Kanal-Inhibitors TEA^+ untersucht, wobei eine Verlangsamung der Propagation sowie eine Reduktion des extrazellulären K^+ -Anstiegs bestätigt werden konnte (Martins-Ferreira et al. 1974). Die $[Na^+]_{ex}$ und $[Cl^-]_{ex}$ sinken um nahezu den gleichen Faktor; die Werte fallen von 149 mmol auf 59 mmol und von 137 mmol auf 47 mmol. Die $[Na^+]_{ex}$ erreicht dabei keine Plateauphase, sondern kehrt umgehend zum Ausgangsniveau zurück. Die $[Cl^-]_{ex}$ hingegen geht, vergleichbar

mit Kalium, am Punkt der maximalen Potentialänderung in einen steady state über (Kraig and Nicholson 1978). Da Na^+ gemeinsam mit Cl^- nach intrazellulär strömt, wird vermutet, dass zur Erhaltung der Elektroneutralität ein bisher unbekanntes Anion die Zelle verlässt (Nicholson 1984). Favorisiert wird die Aminosäure Glutamat, die während einer SD ähnlich wie Kalium extrazellulär akkumuliert (Davies et al. 1995, Fabricius et al. 1993). Die beträchtliche Größe der Konzentrationsänderungen für Kalium und Natrium hat zu der Annahme geführt, dass es während SD zu einem Ausgleich der intra- und extrazellulären Konzentrationen kommt (Collewijn and Van Harreveld 1966). Wird Natrium extrazellulär durch Cholin oder TMA^+ ersetzt, kann eine Reduktion der SD-Depolarisationen beobachtet werden, was die Bedeutung des Natriumeinstromes in die Zelle hervorhebt (Leão 1963). Werden spannungsgesteuerte Natriumkanäle durch TTX inhibiert, treten trotz allem SDs auf (Collewijn and Van Harreveld 1966), woraus folgt, dass nicht nur Na^+ -selektive Kanäle, sondern vielmehr „gemischte“ Ionenkanäle oder Transmitter-gesteuerte-Kanäle während einer SD geöffnet sind (Somjen 2001).

Die $[\text{Ca}^{2+}]_{\text{ex}}$ fällt von 2,2 mmol auf 0,8 mmol (Kraig and Nicholson 1978). Da die $[\text{Ca}^{2+}]_{\text{ex}}$ während einer SD auf eine sehr niedrige Konzentration sinkt, ging man zunächst davon aus, dass Kalziumströme ebenso wie Natriumströme erheblich zur Depolarisation beitragen. Entfernt man jedoch Ca^{2+} aus dem Extrazellularraum, wird eine SD nicht verhindert, sondern eher begünstigt (Basarsky et al. 1998). Ein Teil des nach intrazellulär strömenden Ca^{2+} wird in intrazytoplasmatische Speicher aufgenommen und gepuffert (Somjen 2001). Die erhöhte $[\text{Ca}^{2+}]_{\text{in}}$ kann ansonsten durch Aktivierung von Proteasen zur Zerstörung der Plasmamembran sowie der Neurofilamente und -tubuli führen, was schließlich in den Zelltod mündet (Hossmann et al. 1987).

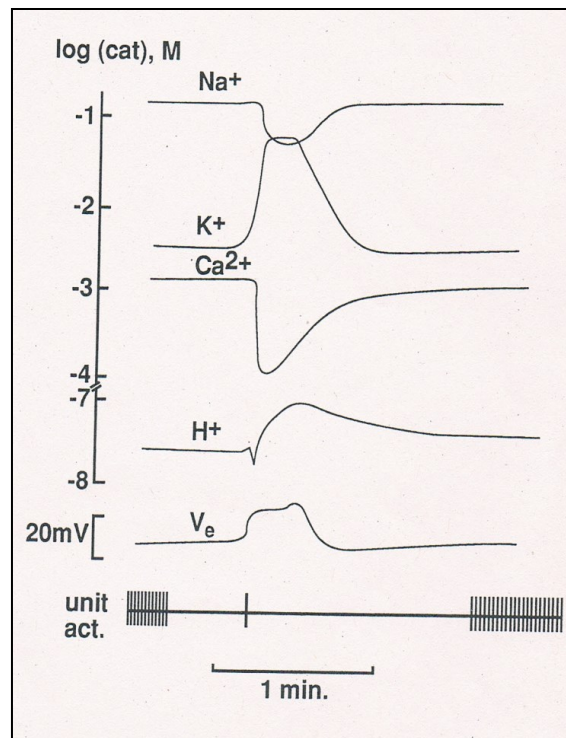


Abb. 1.3: Änderung der extrazellulären Ionenkonzentrationen, des Potentials (V_e) und der neuronalen Aktivität (unit act.) während SD (nach Lauritzen 1987).

Bedingt durch den Einstrom von Na^+ , Cl^- und Ca^{2+} sinkt die Summe der extrazellulären Ionenkonzentration um mehr als ein Drittel während SD (Somjen 2001). Da dem Na^+ - und Cl^- -Einstrom osmotisch bedingt Wasser folgt, wird ein Anschwellen der Zellen im betroffenen Gewebe beobachtet (Marshall 1959, De Oliveira Castro and Martins-Ferreira 1970). Der Wassereinstrom in die Zelle führt zu einer Schrumpfung des Extrazellularraumes um etwa 57% (Kraig and Nicholson 1978), wobei die Abnahme des extrazellulären Volumens zusätzlich zur Erhöhung der $[\text{K}^+]_{\text{ex}}$ beiträgt (Somjen 2001).

Zusammenfassend geht eine SD mit erheblichen Verschiebungen von Ionen zwischen dem Extra- und Intrazellularraum einher. Nicht abschließend geklärt ist der Anteil der einzelnen Ionen am Prozess der SD-Entstehung. Deutlich wird jedoch, dass es im Extra- wie im Intrazellularraum zur Ausbildung großer Ionengradienten kommt, die ihrerseits Ausgangspunkt für massive Ionenbewegungen entlang der Zellmembran sein können.

Aktive Transportvorgänge, v.a. über die Na-K-Pumpe der neuronalen und glialen Membran, spielen bei der Wiederherstellung der intra- und extrazellulären Ionenhomöostase im Anschluss an eine SD eine wesentliche Rolle. Durch Pufferung während einer SD auftretender erhöhter extrazellulärer Kaliumkonzentrationen nehmen Gliazellen auch während

der Erholungsphase eine komplexe Stellung ein (Largo et al. 1996). SD ist demzufolge ein energieverbrauchender (ATP-abhängiger) Prozess, der jedoch im gesunden Hirngewebe ohne permanente Schäden bewältigt wird (Somjen et al. 1992, Nedergaard and Hansen 1988). Es kann somit davon ausgegangen werden, dass wiederholt bei einem gesunden Tier ausgelöste SDs uniform ablaufen und somit miteinander verglichen werden können.

1.4. Propagation der SD-Wellenfront

Der Ausbreitung einer SD scheinen ähnliche Mechanismen wie der Entstehung zugrunde zu liegen. Dabei werden v.a. die Diffusion von Kalium und Glutamat im Extrazellularraum diskutiert (Somjen 2001). Obrenovitch und Zilkha vermuteten dabei, dass hohe extrazelluläre Kaliumspiegel entscheidender für die Propagation einer SD seien als die Ausschüttung von Glutamat (Obrenovitch and Zilkha 1995).

Des Weiteren spielen zytoplasmatische Brücken, sog. gap junctions, zwischen Neuronen und Gliazellen für die Propagation eine wesentliche Rolle (Somjen 2001). Das Öffnen von gap junctions zwischen Neuronen ermögliche dabei eine Propagation der SD über größere Entfernungen (Herreras et al. 1994). Eine lokale Azidose sowie chemische Substanzen, z.B. Halothan oder Heptanol, die zu einem Verschluss der gap junctions führen, können die Ausbreitung einer SD verhindern (Somjen 2001), so dass gap junctions wesentlich am Ausbreitungsprozess beteiligt zu sein scheinen. Nedergaard et al. postulierten, dass Kalziumwellen, die über gap junctions zwischen Astrozyten weitergeleitet werden, entscheidend zur Propagation beitragen (Nedergaard et al. 1995).

1.4.1. Abhängigkeit von Gewebeeigenschaften

Die Wellenfront breitet sich in neuronalen Strukturen aus, die sich in ihrer Morphologie und Funktion unterscheiden. Bereits 1944 postulierte Leão, dass die verschiedenen kortikalen Areale nicht gleichermaßen von der SD erfasst werden. So beobachtete er, dass eine SD in bestimmten Regionen des Rattenkortex, wie der Area retrosplenialis, nicht auslösbar ist, jedoch in frontalen und okzipitalen Arealen bevorzugt ausgelöst werden kann (Leão 1944). Dabei spielt v.a. das Verhältnis zwischen Neuronen- und Gliazelldichte der kortikalen Areale eine wesentliche Rolle (Martins-Ferreira et al. 2000). So kann z.B. in der CA1-Region des Hippocampus, einer Region mit hoher Neuronendichte, eine gesteigerte Initiation von SDs beobachtet werden (Green and Petsche 1961). In den parietalen Kortexarealen findet sich bei

ebenfalls hoher Neuronendichte eine verhältnismäßig niedrige Gliazelldichte (Gabbott and Stewart 1987). Die reduzierte Pufferung extrazellulären Kaliums durch die Gliazellen in dieser Region scheint die Initiation und Propagation einer SD daher maßgeblich zu beeinflussen (Kager et al. 2002). Auch Strong et al. beobachteten, dass die Wahrscheinlichkeit des Auftretens einer SD mit steigender Anzahl an Gliazellen sinkt (Strong et al. 2000).

Zwischen den verschiedenen Hirnarealen, was auch Gebiete mit unterschiedlichem phylogenetischen Alter betrifft, können somit ungleichförmige Ausbreitungsmuster nachgewiesen werden, was sich u.a. in unterschiedlichen Propagationsgeschwindigkeiten im Verlauf einer SD äußert (Eiselt et al. 2004). Godukhin und Obrenovitch zeigten in Untersuchungen an Mäusen, dass die Propagation einer SD von occipital nach frontal bzw. von frontal nach occipital nicht symmetrisch ist. Vielmehr konnten in Abhängigkeit vom Initiationsort (occipital bzw. frontal) unterschiedliche Propagationsgeschwindigkeiten sowie eine unterschiedliche Anzahl an SD-Depolarisationen beobachtet werden (Godukhin and Obrenovitch 2001).

Diese Arbeit untersucht die räumlichen und zeitlichen Ausbreitungsmuster einer SD nach Auslösung in unterschiedlichen Kortexabschnitten. Unter Anwendung des hochauflösenden 16-Kanal-ECoG können kortikale Areale unterschiedlicher Morphologie erfasst und mögliche Unterschiede in der Propagation umfassend analysiert werden.

1.5. Erfassung von Spreading Depolarisations

ECoG und MEG sind wesentliche Methoden, um kortikale Prozesse wie Spreading Depolarisations zu erfassen. Die simultane Anwendung von ECoG und MEG kann ergänzende Aussagen liefern und dient der vorliegenden Arbeit als Grundlage.

1.5.1. Elektrokortikographie (ECoG)

Mit Hilfe des ECoGs können Änderungen des elektrischen Potentials ohne großen Amplitudenverlust und Veränderung der Frequenzzusammensetzung direkt an der Kortexoberfläche erfasst werden. Durch mehrere räumlich voneinander getrennte Elektroden können Potentialänderungen räumlich-zeitlich hochauflösend gemessen werden, so dass eine detaillierte Aussage über die räumliche und zeitliche Dynamik elektrischer Aktivität möglich ist. Dies wird auch anhand der vorliegenden Arbeit gezeigt. Der Nachteil liegt jedoch in der

invasiven Methodik, so dass das ECoG in der klinischen Routinediagnostik nur in speziellen Situationen, z.B. im Rahmen neurochirurgischer Eingriffe, einsetzbar ist. Strong et al. gelang 2002 der Nachweis einer episodischen Reduktion der spontanen neuronalen Aktivität mittels ECoG bei Patienten nach Schädelhirntrauma. Er zeigte, dass sich diese mit einer Geschwindigkeit von 0,6-5 mm/min über den Kortex ausbreitete (Strong et al. 2002).

1.5.2. Magnetencephalographie (MEG)

Die Magnetencephalographie wurde erstmals durch Dr. Cohen, der 1968 α -Wellen in einem magnetisch abgeschirmten Raum aufzeichnete, als Verfahren zur Messung magnetischer Hirnaktivität eingesetzt (Cohen 1968). Durch Verbesserung der Messtechnik in den letzten Jahrzehnten hat die MEG neben der EEG und ECoG für eine Funktionsanalyse des ZNS zunehmend an Bedeutung gewonnen. Kortikale Prozesse wie SD können so nichtinvasiv, also außerhalb des zu untersuchenden Objektes, erfasst werden. Daher dient die MEG nicht nur der Grundlagenforschung, sondern hat in den vergangenen Jahren in speziellen Zentren auch einen Platz in der klinischen Diagnostik eingenommen.

1.5.2.1. Physikalisch-technische Grundlagen des MEGs

Da die Bewegung elektrischer Ladung ein Magnetfeld hervorruft, werden auch durch Gehirnströme magnetische Felder generiert, die außerhalb des Kopfes gemessen werden können. Die Stärke dieser Felder liegt im fT-Bereich und ist somit bis zu 10^{10} mal kleiner als das Erdmagnetfeld. Die Erfassung derartig kleiner Magnetfelder stellt erhebliche Anforderungen an die Messtechnik. Hier bedient man sich sogenannter SQUID (Superconducting QUantum Interference Device)-Magnetometer, bestehend aus Detektionsspule, Inputspule, SQUID-Sensor und Elektronik (s. Abb. 1.4.). Um möglichst kleine Schwankungen des magnetischen Flusses zu erfassen, besteht ein SQUID aus einem supraleitenden Ring, der durch zwei elektrische Kontakte mit höherem Widerstand (Josephson-Kontakte) unterbrochen ist. Diese können jedoch von kleinen Strömen durchflossen werden, wobei in Kombination mit der Quantelung des Flusses geringe Magnetfeldveränderungen gemessen werden können (Fagaly 1990). Um die Empfindlichkeit des SQUIDs zu erhöhen, wird es mit einer supraleitenden Spule gekoppelt, wobei eine zweite Spule entgegengesetzt orientiert (Gradiometer) ist. SQUID-Sensor sowie Detektionsspule unterliegen dem Prinzip der Supraleitung, so dass eine Kühlung mittels flüssigen Heliums zur Aufrechterhaltung der Supraleitfähigkeit erforderlich ist.

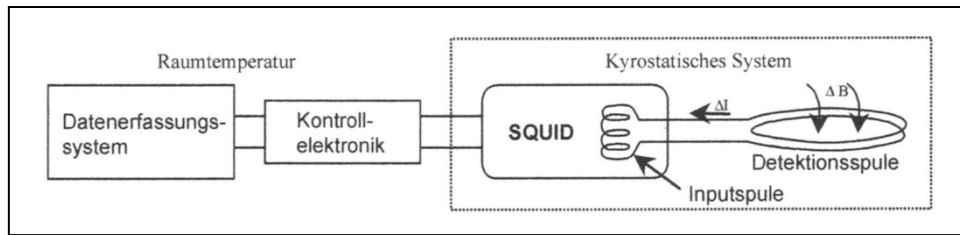


Abb. 1.4: Schematischer Aufbau eines SQUID-Magnetometers mit Kyrostatischem System und Elektronik; ΔB = Änderung des Magnetfeldes, ΔI = Änderung des Stromes (nach Fagaly 1990).

Da Magnetometer sensitiv sowohl gegenüber Magnetfeldern in der unmittelbaren Nähe als auch in größerer Entfernung, wie z.B. dem Erdmagnetfeld, sind, werden für die Messung kleiner Magnetfelder nahe der Detektionsspule sogenannte Gradiometer angewandt. Hier kommen entgegengesetzt gewickelte Spulen zum Einsatz, die durch weiter entfernte Magnetfelder (Störmagnetfelder) elektrische Ströme induzieren, die sich gegenseitig aufheben, so dass Veränderungen von weiter außerhalb liegenden Magnetfeldquellen nicht erfasst werden. Zur Eliminierung hochfrequenter Störmagnetfelder müssen die Messungen in einer magnetisch abgeschirmten Kammer erfolgen. Die Spulen sind so angeordnet, dass sie die senkrecht zu Schädeloberfläche orientierten Anteile des Magnetfeldes messen. Die zugrunde liegenden Ströme werden durch elektrische Ströme aktiver Neurone verursacht, welche in den Spulen des MEG-Sensors einen elektrischen Strom induzieren. Aus theoretischen und experimentellen Studien geht hervor, dass MEG-Systeme nur Stromanteile messen können, die tangential zur Oberfläche ausgerichtet sind (Cohen and Cuffin 1983, Okada et al. 1988). In der komplexen Zytoarchitektur des Kortex sind die Zellen und ihre Ausläufer jedoch so angeordnet, dass immer tangential und radial fließende Ströme resultieren (Gardner-Medwin et al. 1991). Haueisen et al. zeigten, dass daher etwa 30% des Magnetfeldes von senkrecht zur Hirnoberfläche verlaufenden Strömen erfasst werden können (Haueisen et al. 1995).

1.5.2.2. MEG zur Erfassung von Spreading Depolarisations

SD-assoziierte Magnetfeldveränderungen wurden erstmals 1988 durch Okada et al. am isolierten Cerebellum der Schildkröte gemessen (Okada et al. 1988). In den folgenden Jahren wurden SDs vielfach unter Anwendung des MEGs analysiert. Abb. 1.5. zeigt typische MEG-Veränderungen, wie sie nach Auslösung einer SD am Kaninchenmodell durch Gardner-Medwin et al. beobachtet werden konnten (Gardner-Medwin et al. 1991).

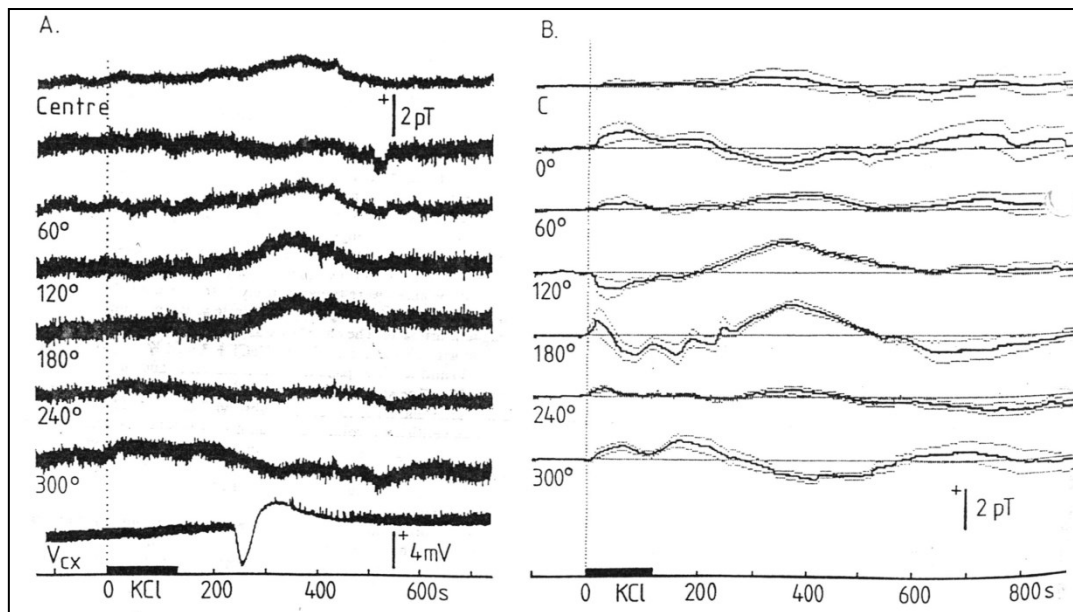


Abb. 1.5: (A) Typische magnetische (obere 7 Kurven) und elektrische Veränderungen (untere Kurve links) nach KCl-Applikation am Kaninchenmodell, (B) Mittelwert \pm S.E.M. für 7 MEG-Messungen (nach Gardner-Medwin et al. 1991).

Bowyer et al. zeigten, dass mit Eintritt der Depolarisationswelle in den Sulcus saggitalis eine signifikante Zunahme der Magnetfeldstärke gemessen werden kann, da der Hauptanteil der intrazerebralen Ströme dann tangential zur Kortexoberfläche ausgerichtet ist (Bowyer et al. 1999a). SD-typische MEG-Veränderungen wurden zudem am gyrencephalen Schweinegehirn näher untersucht, welches, ähnlich wie beim Menschen, zahlreiche Sulci aufweist (Bowyer et al. 1999b).

In neueren Studien konnten SD-typische Magnetfeldveränderungen beim Menschen z.B. im Zusammenhang mit Krankheitsbildern wie der Migräne oder der Epilepsie detektiert werden. So konnten Bowyer et al. MEG-Veränderungen bei spontan auftretenden und visuell induzierten Migräneattacken erfassen (Bowyer et al. 2001). In weiteren Studien wurde das MEG genutzt, um Reaktionen des Gehirns auf die medikamentöse Therapie der Migräne zu untersuchen (Bowyer et al. 2005) oder SD-typische, langsame Potentialänderungen im Rahmen von epileptischen Anfällen zu erfassen (Bowyer et al. 2012). Diese Daten belegen, dass das MEG als nichtinvasive Methode zunehmend an Bedeutung gewinnt. Daher ist es wichtig, die Verlaufsmuster einer SD im MEG sowie deren zeitliche Beziehung zur elektrischen Aktivität näher zu analysieren. Die vorliegende Arbeit soll dazu einen Beitrag leisten.

1.6. Zielstellung

Spreading Depolarisations und deren kortikale Propagation konnten in vorangegangenen Studien mehrfach nachgewiesen werden. Auch konnten durch verschiedene Elektrodenanordnungen ungleichförmige Ausbreitungsmuster beschrieben werden. In der vorliegenden Arbeit sollen die räumlichen und zeitlichen Propagationsmuster im 16-Kanal-ECoG mit hoher räumlicher Auflösung unter Berücksichtigung der unterschiedlichen kortikalen Morphologie analysiert werden. Um zu untersuchen, ob trotz Reizung in unterschiedlichen kortikalen Abschnitten einheitliche Muster hinsichtlich der Propagation und des lokalen Ausmaßes der Depolarisation auftreten, wurden SDs jeweils kaudal, lateral und rostral eines 4x4 Elektrodenarrays ausgelöst. Diese Fragestellung wurde in den bisherigen Studien nicht in ausreichender und detaillierter Form bearbeitet, obgleich in der Literatur bereits auf eine asymmetrische Propagation der Wellenfront in Abhängigkeit vom Initiationsort der SD hingewiesen wird (Godukhin and Obrenovitch 2001). Godukhin and Obrenovitch verwendeten in ihren Studien einerseits nur einzelne Elektroden zur Erfassung der Depolarisationen, so dass keine umfassende Beschreibung der räumlichen und zeitlichen Verläufe vorgenommen werden konnte. Andererseits wurden SDs nur im occipitalen bzw. im frontalen Kortex ausgelöst. In der vorliegenden Arbeit werden SDs zusätzlich im parietalen Kortex (lateral des Elektrodenarrays), dessen morphologische Eigenschaften sich von denen des occipitalen bzw. frontalen Kortex unterscheiden, initiiert. Zudem kann hiermit untersucht werden, ob bestimmte kortikale Areale bevorzugt von der Depolarisation erfasst werden bzw. welchen Einfluß der Reizort einer SD auf die Propagation nimmt. Zusammenfassend sollen die räumlichen und zeitlichen Propagationsmuster in Abhängigkeit des Reizortes und somit der unterschiedlichen Histologie bei 10 Versuchstieren in aufeinanderfolgenden Messungen detailliert beschrieben und verglichen werden. Bei einem Teil der Tiere (n=4) wurden SDs mittels kortikaler KCl-Applikation ausgelöst. Hintergrund ist die Frage, ob sich Hinweise auf Unterschiede hinsichtlich der räumlichen und zeitlichen Propagationsmuster, des Potentialverlaufs und des Depolarisationsausmaßes im ECoG sowie der Verlaufsmuster im MEG nach KCl- und elektrischer Reizung ergeben.

ECoG und MEG sind wesentliche Methoden, um kortikale Prozesse wie Spreading Depolarisation zu messen. Ziel dieser Arbeit ist die simultane Erfassung von SDs im 16-Kanal-ECoG und 16-Kanal-MEG, um die räumliche und zeitliche Propagation umfassend zu beschreiben und Aussagen über den kortikalen Gesamtprozess zu gewinnen. Dabei soll zum einen untersucht werden, ob das SD-Ereignis grundsätzlich durch beide Verfahren erfasst

werden kann. Zum anderen soll analysiert werden, ob sowohl im ECoG als auch im MEG trotz Reizung in verschiedenen kortikalen Arealen einheitliche Muster beobachtet werden können. Die zeitlichen Verlaufsmuster im MEG werden anhand des Verlaufs der mittleren globalen Magnetfeldstärke (MGFP) beschrieben, die eine signifikante Zunahme der Magnetfeldstärke signalisiert.

Ein weiterer Schwerpunkt der vorliegenden Arbeit soll die präzise Analyse der zeitlichen Dynamik der simultan erfassten elektrischen und magnetischen Veränderungen bei Spreading Depolarisation sein, was bisher nicht in ausreichender Form erfolgte. Neben einer quantitativen Darstellung der Zeitbereiche, in denen das Ereignis gleichzeitig durch beide Methoden erfasst wird, soll auch untersucht werden, in welchen Zeitintervallen das SD-Ereignis allein anhand des ECoG bzw. des MEG beschrieben werden kann.

Zusammenfassend werden in dieser Arbeit die räumlichen und zeitlichen Ausbreitungsmuster von Spreading Depolarisations im 16-Kanal-ECoG- und MEG in Abhängigkeit der unterschiedlichen morphologischen Eigenschaften untersucht. Die detaillierte Analyse der zeitlichen Dynamik simultan erfasster elektrischer und magnetischer Veränderungen hat im Hinblick auf die nichtinvasive Erfassung von SDs Bedeutung. Dabei können v.a. die zeitlichen Beziehungen der kortikal ablaufenden Prozesse und der von außen erfassten Signalveränderungen im MEG präzisiert werden. Zudem soll anhand der vorliegenden Ergebnisse diskutiert werden, ob einheitliche zeitliche Muster im MEG in Beziehung zu den räumlichen und zeitlichen Propagationsmustern im ECoG bestehen.

2. Materialien und Methoden

Messungen wurden bei 10 adulten männlichen Ratten der Rassen Thomae und Hannover-Wistar durchgeführt. Beide Rassen wurden für die Untersuchung von Spreading Depolarisations herangezogen; in der Literatur sind keine Unterschiede bezüglich der zu untersuchenden Fragestellung bekannt. SD-Ereignisse wurden im 16-Kanal-Elektrokortiko (ECoG)- und 16-Kanal-Magnetencephalogramm (MEG) simultan erfasst und analysiert.

2.1. Vorbereitung und Anästhesie der Versuchstiere

Die Tiere wurden zunächst mit einem Sauerstoff/Lachgas-Gemisch (1:2) und Halothan (initial 3 Vol%, dann reduziert bis 1 Vol%) per inhalationem narkotisiert. Nach Abschluss der Präparationsarbeiten wurde die Anästhesie durch intraperitoneale Gabe von α -Chloralose (10 mg/kg) und Urethan (30 mg/kg) fortgesetzt und die Halothaninhalation beendet. Während der Untersuchungen atmeten die Tiere spontan; Sauerstoff/Lachgas wurde weiterhin zugeführt. Um lokal eine ausreichende Analgesie zu erzielen, wurden die Inzisionsstellen für die nachfolgende Präparation mit Xylocitin 2% unterspritzt. Bei einem Teil der Tiere wurden ein arterieller und ein venöser Katheter in die Arteria und Vena femoralis zur kontinuierlichen Blutdruckmessung bzw. wiederholten Messungen der Blutgase gelegt. Die Werte zeigten, dass es bei dem experimentellen Vorgehen zu keinen nennenswerten Abweichungen der erhobenen Parameter von den physiologischen Werten kam (s. Tab. 2.1.). Dies belegt, dass das experimentelle Vorgehen physiologische Bedingungen sichert. Dies ist von Bedeutung, da Abweichungen der physiologischen Parameter, z.B. der Körpertemperatur Einfluß auf die Propagationsgeschwindigkeit nehmen (Takaoka et al. 1996). Die Körpertemperatur wurde kontinuierlich mit einem Thermistor rektal gemessen. Um Wärmeverluste während des Versuchs zu vermeiden, wurde den Tieren über ein Wärmebett in Abhängigkeit von der Rektaltemperatur Wärme zugeführt.

Nach Beendigung der Messung wurde das Versuchstier mittels einer Überdosis α -Chloralose und Urethan intraperitoneal getötet.

Die hier durchgeführten Versuche wurden vom Thüringer Landesverwaltungsamt, Reg.-Nr. 02-23/97, genehmigt.

Tab. 2.1: Mittlerer Blutdruck (BD), Rektaltemperatur, Säure-Basen-Werte und Blutgaswerte (n=5)

	Mittelwert \pm SD
Mittlerer BD [mmHg]	123,05 \pm 15,35
Temp. [°C]	36,94 \pm 0,24
pH	7,40 \pm 0,03
pCO ₂ [mmHg]	37,07 \pm 2,16
pO ₂ [mmHg]	123,90 \pm 14,18
HCO ₃ ⁻ [mmol/L]	22,67 \pm 1,91
ABE [mmol/L]	-1,23 \pm 2,21
sO ₂ [%]	98,49 \pm 0,52

2.2. Präparation

Nach Entfernung des Skalps und den kranialen Anteilen des M. temporalis wurde der Knochenschädel freigelegt. In einem rechteckigen Areal von 33 mm² (5,5x6 mm) wurde 2,2 mm anterior und -3,8 mm posterior des Bregma die Kraniotomie durchgeführt. Das Kraniotomiefenster erstreckte sich vom Sinus sagittalis 0,5 mm auf die linke Hemisphäre und 5 mm nach lateral auf die rechte Hemisphäre (s. Abb. 2.1.). Unter ständigem Spülen mit physiologischer Kochsalzlösung wurde der Knochenschädel schrittweise bis auf eine dünne Lamelle abgetragen. Diese wurde anschließend vorsichtig von der Dura mater abgehoben. Unter Schonung der größeren Gefäße (Sinus sagittalis superior und oberflächliche Arterien) wurde schließlich die Dura mater über der rechten Hemisphäre inzidiert und soweit präpariert, dass sie auf die linke Hemisphäre gelegt werden konnte.

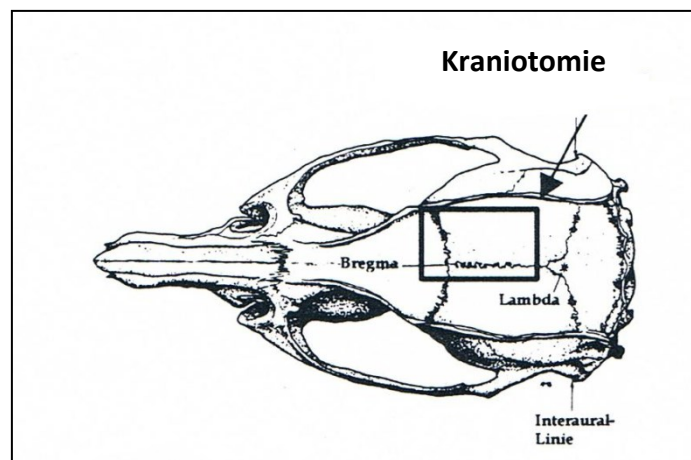


Abb. 2.1: Rattenschädel mit Kraniotomiefenster (Rechteck).

2.3. Erfassung der Messdaten

2.3.1. Elektrokortikographie (ECoG)

Die kortikalen Potentialänderungen wurden mittels eines 4x4 Elektrodenarray unipolar mit Ag/AgCl-Elektroden erfasst. Dies erfolgte, um eine hohe räumliche Auflösung und ein relativ großes kortikales Areal zu erreichen. Das Gitter bedeckte ein Areal von 1 mm anterior bis - 2,75 mm posterior und 0,5 bis 4,25 mm lateral des Bregma auf der rechten Seite (s. Abb. 2.2.A). Der Abstand zwischen den Elektroden betrug jeweils 1,25 mm (Elektroden Durchmesser 0,25 mm). Elektrode 1 lag kaudal-lateral, Elektrode 16 rostral-medial. Die exakte Lokalisation der Elektroden in Bezug zu Landmarken im Schädelknochen der Ratte wurde mit Hilfe eines stereotaktischen Systems ermittelt. Die indifferente Elektrode wurde über dem Nasenbein positioniert. Die Elektroden wurden nach Bures et al. konditioniert, indem sie 12 Stunden vor Messbeginn unter Lichtausschluss in physiologischer Kochsalzlösung aufbewahrt wurden (Bures et al. 1967). Um Wärmeverluste, Verdunstungen oder einen Gasaustausch mit der Umgebung zu verhindern, wurde das freiliegende Kortexareal mit einem Silikonstreifen bedeckt, welcher auch die Elektroden enthielt. Durch Fixierung des Kopfes in einer Kunststoffhalterung konnten Bewegungsartefakte während der Messung verhindert werden.

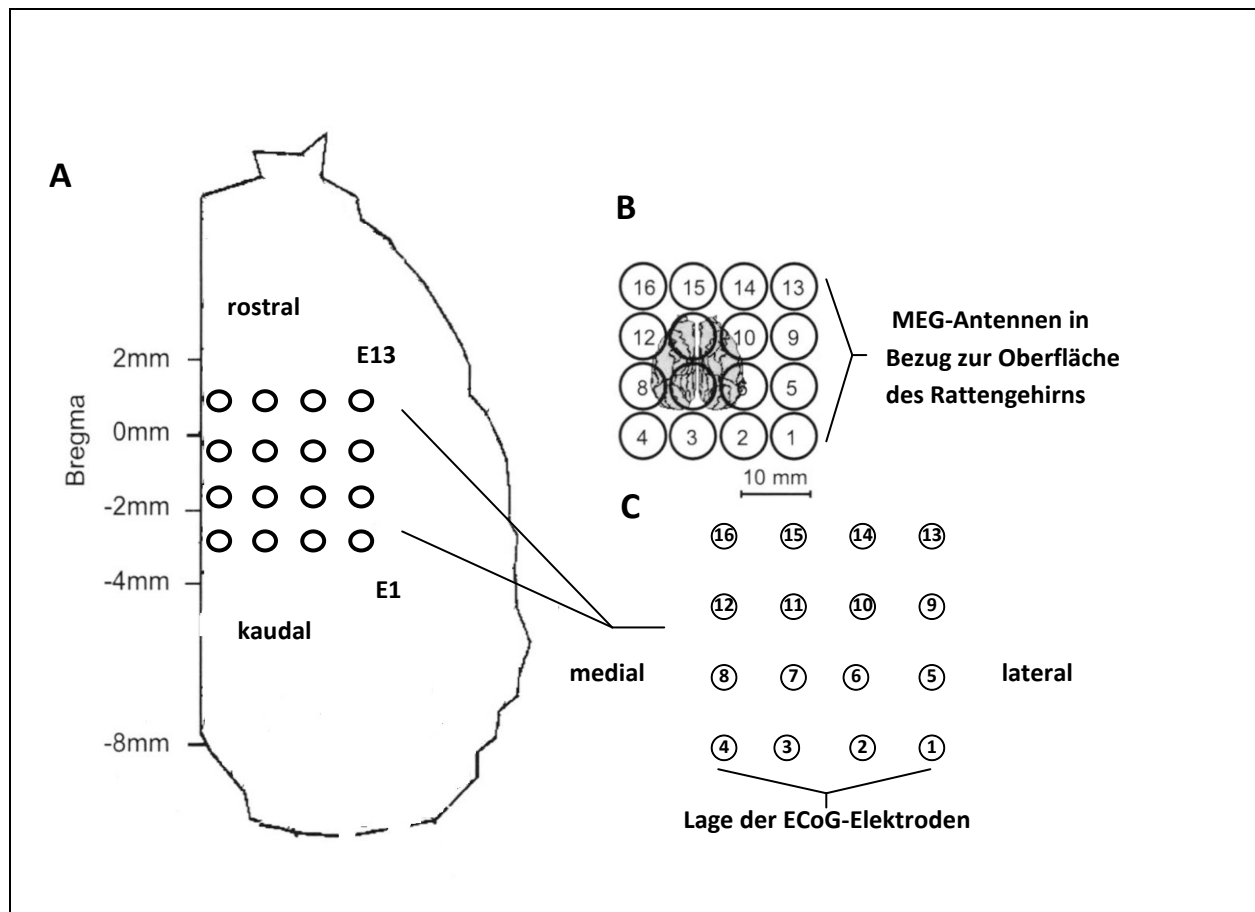


Abb. 2.2: (A) rechte Hemisphäre des Rattengehirns mit Lage des ECoG-Elektroden (E1 kaudal lateral, E13 rostral lateral), (B) Lokalisation der MEG-Antennen in Bezug zum Rattengehirn, (C) ECoG-Elektrodenarray.

2.3.2. Magnetencephalographie (MEG)

Die Erfassung der Magnetfelder im Rahmen tierexperimenteller Untersuchungen stellt besondere Anforderungen an die Messeinrichtung bezüglich Empfindlichkeit und räumlicher Auflösung. Das hier verwendete SQUID-Gradiometersystem wurde speziell für Untersuchungen an kleinen Objekten entwickelt (Nowak et al. 1999). Mit Hilfe eines 16-Kanal-SQUID-Systems (Sensitivität $20\text{-}25 \text{ fT}/\sqrt{\text{Hz}}$) wurde das Magnetfeld gemessen. Es bestand aus 16 Antennen, wobei jede Antenne ein asymmetrisches Gradiometer 1. Ordnung darstellt. Für die Erfassung des räumlichen Magnetfeldmusters waren die Antennen in einem 4×4 Gitter angeordnet. Der Abstand zwischen zwei Antennen betrug ca. 9 mm (Mittelpunkt zu Mittelpunkt). Die Distanz zwischen Detektionsspule (mit einem Durchmesser von 6,7 mm und einer Basislänge von 30 mm (die Basislänge beschreibt den Abstand der Detektionsspule zur Gradiometerspule)) und Kortexoberfläche betrug etwa 6 mm. Eine exakte Angabe ist nicht möglich, da die Antennen sich in einem mit Helium (Siedepunkt $4,2^\circ \text{ Kelvin}$) gekühlten

Kryostaten befanden, um Supraleitung zu erreichen. Bei Temperaturen nahe dem absoluten Nullpunkt sinkt der spezifische Widerstand nahe Null (Prinzip der Supraleitung), was wesentlich zur Verbesserung des Signal-Rausch-Verhältnisses beiträgt. Das zu messende Signal wurde über einen Flusstransformator zu den einzelnen SQUIDS geleitet. Für die Elimination von Störmagnetfeldern oder zumindest deren Dämpfung kamen zwei Methoden zum Einsatz.

I) Um v.a. hochfrequente Magnetfelder aus der Umgebung zu minimieren, erfolgten die Messungen innerhalb einer abgeschirmten Messkammer. Diese bestand aus 2 MUMETAL Schichten, ein ferromagnetisches Material, welches bewirkt, dass der äußere magnetische Fluss vorwiegend über dieses Material geleitet wird und somit nur abgeschwächt in das Innere der Kammer dringt (passive Abschirmung). Eine Gitterkonstruktion aus Aluminium bewirkte zusätzlich die Abschirmung von Störungen im Frequenzbereich von > 1 Hz.

II) Mit Hilfe eines Magnetometers wurden niederfrequente Magnetfelder in allen drei Raumrichtungen im Abstand von 50 cm zum Versuchstier in der Kammer gemessen. Aufgrund des Abstandes zum Tier wurden mit diesem Magnetometer Störfelder innerhalb der Kammer erfasst, die jedoch ihren Ursprung nicht in dem Tier hatten. Unter Nutzung dieses Signals wurden drei an den Außenflächen der Kammer angebrachten Spulen so mit Strom versorgt, dass die entstehenden Magnetfelder den Störfeldern entgegenwirkten und deren Effekt in der Kammer eliminierten oder wenigstens stark dämpften (aktive Abschirmung). Durch dieses Prinzip kann eine Dämpfung des Rauschens im Frequenzbereich von < 1 Hz von mehr als 25 dB erzielt werden (Platzek et al. 1999).

2.3.3. Aufzeichnung der Messdaten

Simultan wurden 16 Kanäle ECoG und 16 Kanäle MEG erfasst. Die Messungen wurden unmittelbar nach Reizauslösung gestartet, d.h. zum einen nachdem KCl in Kontakt mit der Kortexoberfläche kam, zum anderen nach Stromapplikation über die Reizelektroden. Die Messzeit betrug im Mittel 18 ± 6 min ($n=38$). Die Messdaten wurden gefiltert (Tiefpass < 15 Hz), durch einen Analog-Digital-Wandler mit 40 Hz digitalisiert (12 bit Auflösung) und mit einem Messrechner aufgezeichnet.

2.4. Stimulation der Kortexoberfläche mittels Kaliumchlorid

Für die Auslösung einer Spreading Depolarisation mittels KCl wurde bei vier Versuchstieren kaudal des rechteckigen Kraniotomiefensters über der rechten Hemisphäre ein Bohrloch von 3 mm Durchmesser geschaffen. Das Zentrum lag dabei 7,5 mm posterior des Bregma und 3,5 mm lateral des Vertex (s. Abb. 2.3.A). In die Bohrung wurde eine Kappe gesetzt, um die 0,3 molare KCl-Lösung zu applizieren. Die Dura mater blieb bis auf eine kleine Inzision im Zentrum des Bohrlochs intakt. Mit Hilfe eines „Push-Pull-Systems“ (s. Abb. 2.3.B) wurde die KCl-Applikation von außerhalb der magnetisch abgeschirmten Kammer ermöglicht. Die Kappe sowie Teile des zuführenden Systems waren mit physiologischer NaCl-Lösung gefüllt, eine kleine Luftblase trennte diese von der KCl-Lösung. Dabei wurde das Volumen an NaCl-Lösung so gewählt, dass 5 s nach dem Start des Push-Pull-Systems die KCl-Lösung mit der Kortexoberfläche in Berührung kam. KCl wurde über einen Zeitraum von 1 min zugeführt, anschließend wurde mit physiologischer Kochsalzlösung gespült. Um eine Drucksteigerung und damit eine druckbedingte Alteration des Kortex zu vermeiden, wurde die Lösung über einen abführenden Schenkel wieder entzogen. Zu- und Abfuhr waren pro Zeiteinheit gleich groß. Das Procedere wurde bei drei Tieren dreimal, bei einem Tier viermal wiederholt, wobei jeweils eine Pause von 30 min bis zur nächsten KCl-Applikation eingehalten wurde.

Die Lage des Elektrodenarrays in Bezug zum KCl-Bohrloch wird in Abb. 2.3. graphisch dargestellt. Die mittlere Distanz zwischen dem Ort der KCl-Applikation und E1 bzw. E4 betrug dabei 5,6 mm bzw. 6,4 mm.

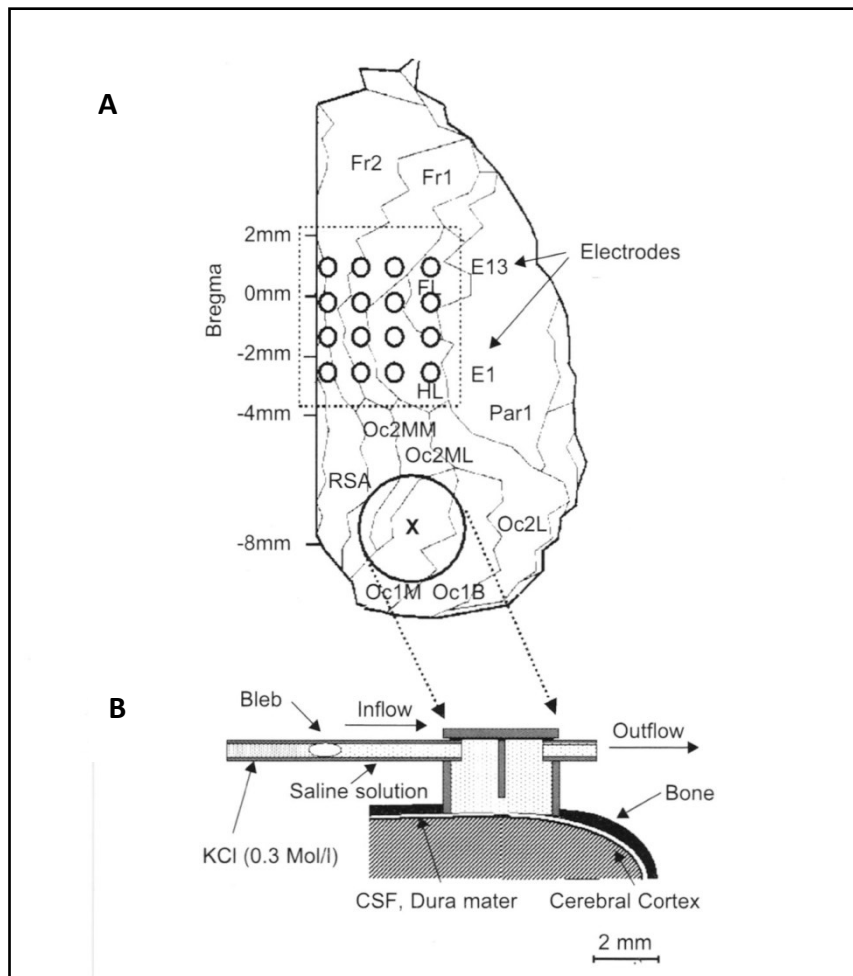


Abb. 2.3: (A) Übersicht über den Kortex der Ratte mit Lage des Elektrodenarrays, des Kraniotomiefensters (gestrichelte Linie) und des Bohrlochs für die KCl-Applikation (kaudal), (B) Plastikkappe auf der Kortexoberfläche für Zu- und Abfuhr der KCl- und NaCl-Lösung (CSF: cerebral spinal fluid; bleb = Luftblase, die KCl-Lösung von der physiologischen Kochsalzlösung trennt) (nach Eiselt et al. 2004).

2.5. Stimulation mittels Reizelektroden

Bei sechs Versuchstieren wurden Spreading Depolarisations durch tetanische elektrische Reizung der Kortexoberfläche ausgelöst. Dazu wurden die beiden Reizelektroden (Abstand 1,5 – 2 mm) über ein kleines Bohrloch direkt auf der Dura mater platziert. Diese besaßen kleine Metallkugeln an der Spitze, so dass eine mechanische Alteration vermieden wurde. Um Aussagen über das zeitliche und räumliche Verlaufsmuster in Abhängigkeit vom Reizort zu gewinnen, wurden die Reizelektroden bei jeweils zwei Tieren kaudal, lateral und rostral in

Bezug zum Elektrodenarray positioniert (s. Abb. 2.4.). Ein Reizstrom von 5 mA wurde jeweils über einen Zeitraum von 5 s mit einer Frequenz von 20 Hz appliziert.

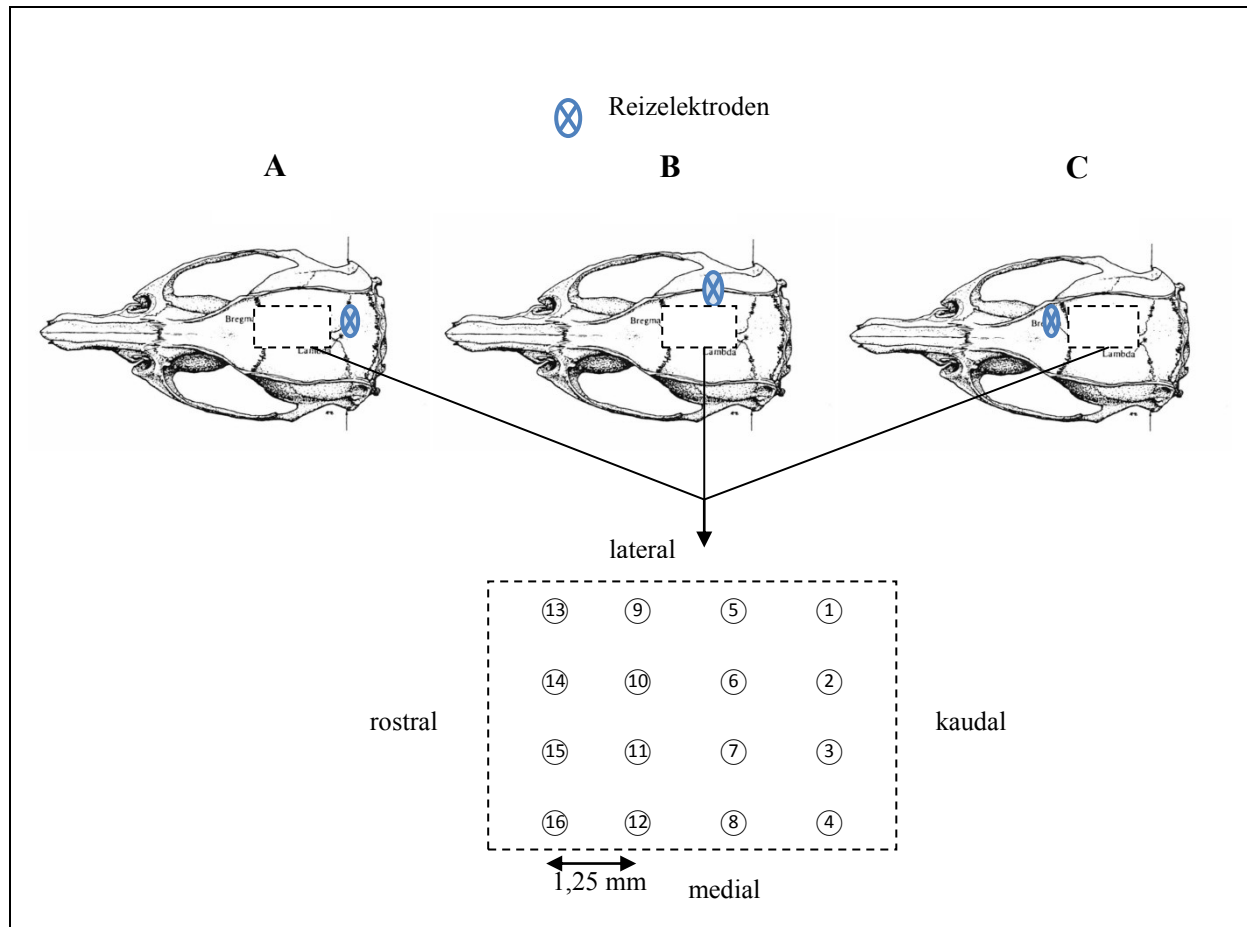


Abb. 2.4: Position der Reizelektroden in Relation zum Elektrodenarray bei (A) kaudaler Reizung, (B) lateraler Reizung und (C) rostraler Reizung.

2.6. Auswertung des Elektrokortikogrammes

Sowohl die ECoG- als auch die MEG-Messdaten wurden mit Hilfe des Auswertungsprogrammes CURRY V46 (Philips Electronics N.V., Hamburg) analysiert. Die Daten wurden mit einem Tiefpass von 0,01 Hz gefiltert.

2.6.1. Kriterien einer Spreading Depolarisation im Elektrokortikogramm

Signalveränderungen wurden einem Spreading Depolarisation - Ereignis zugeordnet, wenn folgende Kriterien erfüllt waren:

- 1. negative Potentialänderung $> 0,5$ mV an mindestens fünf Elektroden, entsprechend dem in Kapitel 1.1.3. beschriebenen charakteristischen Verlauf einer SD. Die Amplitude der negativen Potentialänderung variierte im 16-Kanal-ECOG. Aus diesem Grund wurde als weiteres und wesentliches Kriterium die Propagation herangezogen, so dass auch negative Potentialveränderungen mit geringerer Amplitude (z.B. 0,2 mV) berücksichtigt wurden, wenn das Signal in seinem Potentialverlauf einer SD-Depolarisation glich und zeitlich versetzt durch verschiedene Elektroden erfasst wurde.
- 2. Propagation: zeitlich versetzte Erfassung der negativen Potentialveränderung in den einzelnen Kanälen.

2.6.2. Basislinienkorrektur/Lineare Trendelimination und Artefaktelimination

Innerhalb eines Messzeitraumes von mehreren Minuten wurden sowohl messtechnisch bedingte Grundlinienverschiebungen als auch Signalveränderungen, die im Zusammenhang mit dem SD-Ereignis stehen, erfasst. Sehr langsame Potentialänderungen, die nicht im Zusammenhang mit dem interessierenden Signal stehen, können durch elektrochemische Prozesse an den Elektroden bedingt sein und wurden daher eliminiert. Für die jeweiligen Messungen wurde daher eine Basislinienkorrektur bzw. lineare Trendelimination durchgeführt, so dass der Verlauf des SD-Signales möglichst unbeeinflusst war (s. Abb. 2.5.). Für die Berechnung wurden zwei Zeitintervalle ausgewählt, die vor und nach dem interessierenden Signalbereich lagen und diesen nicht überschritten. Die Zeitintervalle betrugen mindestens 50 s, im Mittel 134 ± 60 s. Aus diesen beiden Zeitintervallen wurde mittels linearer Regression ein Parameter ermittelt, der den linearen Trend beschreibt. Der so ermittelte lineare Trend wurde vom Ausgangssignal abgezogen. In Fällen, in denen das SD-Signal relativ frühzeitig gemessen wurde, wurden zwei Zeitbereiche nach dem Ereignis ausgewählt, zwischen denen ein Abstand von mindestens 50 s lag.

Kanäle, bei denen die Amplitude der Potentialänderung $< 0,1$ mV betrug bzw. deren Signal durch Artefakte überlagert war, wurden von der weiteren Auswertung ausgeschlossen.

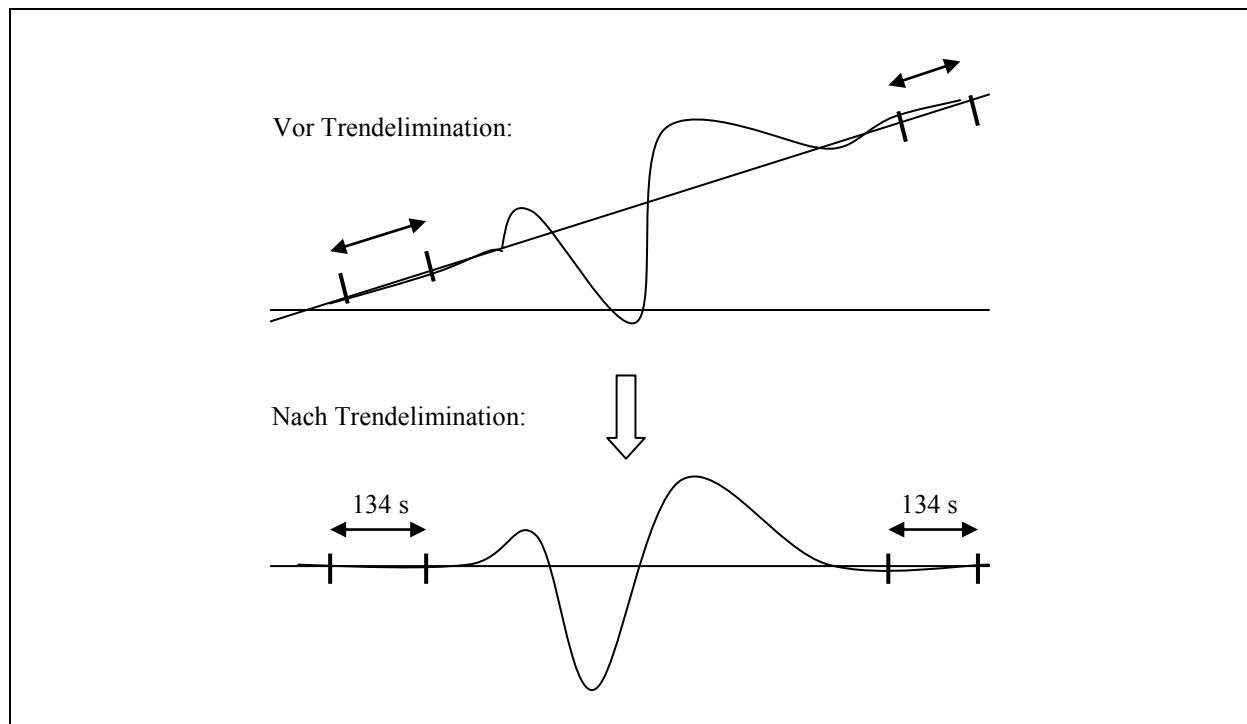


Abb. 2.5: Schematische Darstellung der Basislinienkorrektur bzw. Elimination des linearen Trends anhand von zwei Zeitintervallen (im Mittel je 134 s) vor bzw. nach dem zu untersuchenden Signal.

2.6.3. Beschreibung der Propagation der SD-Wellenfront im Elektrokortikogramm

Für die Depolarisation an jeder Elektrode wurde der Zeitpunkt des Erreichens der Hälfte der maximalen Depolarisationsamplitude, kurz 50%-Wert, bestimmt und als charakteristischer Zeitpunkt definiert, anhand dessen das zeitlich differente Auftreten der SD an den einzelnen Elektroden beschrieben werden sollte (s. Abb. 2.6.). Somit konnte für jedes SD-Ereignis im Bereich des 16-Kanal-ECoG-Elektrodenarrays ein zeitlicher und räumlicher Verlauf beschrieben werden.

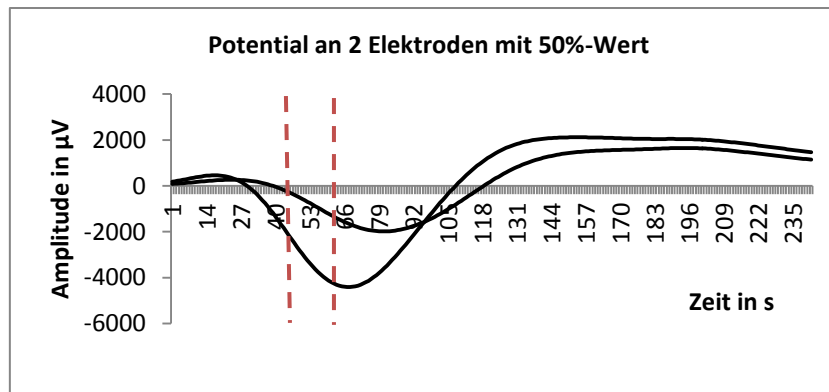


Abb. 2.6: Schematische Darstellung der Propagation anhand des sog. 50%-Wertes (rote gestrichelte Linie) von 2 Elektroden, x-Achse: Zeit in s, y-Achse: Amplitude in μV .

Für die Ermittlung des 50%-Wertes war die Festlegung des Depolarisationsbeginnes in dem entsprechenden Kanal erforderlich. Da der Beginn der negativen Potentialänderung aufgrund von Potentialschwankungen und einem häufig auftretenden positivem Vor-Potential schwer zu definieren war, wurde für jeden Kanal die 1. Ableitung nach der Zeit berechnet. Somit wurde für den Beginn der Depolarisation bis zum Erreichen des negativen Maximums eine Sequenz negativer Werte geschaffen, wobei der 1. negative Wert als Beginn einer Potentialänderung definiert wurde, die schließlich bis zur maximalen Depolarisation führte (s. Abb. 2.7.).

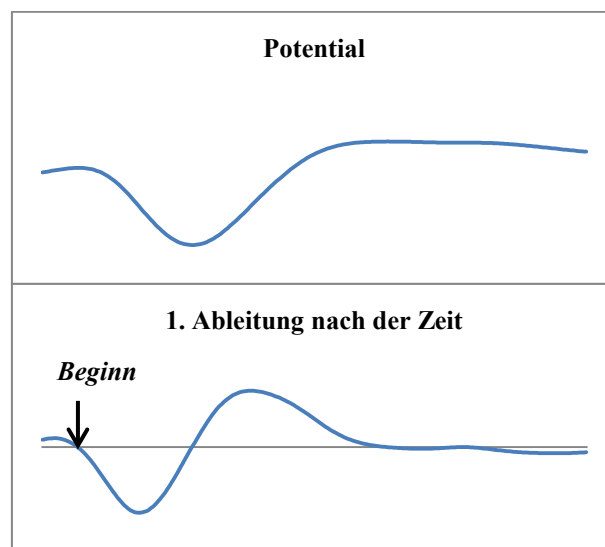


Abb. 2.7: Schematische Darstellung des Depolarisationsbeginnes anhand der 1. Ableitung nach der Zeit.

2.6.3.1. Zeitliche und räumliche Propagation nach kaudaler, lateraler und rostraler Reizung

Trotz intra- und interindividuell variierender Propagationsmuster wurde versucht, die grobe Propagationsbewegung im Bereich des Elektrodenarrays nach kaudaler, lateraler und rostraler Reizung zusammenzufassen und zeitlich und räumlich darzustellen. Ausgehend vom Depolarisationsbeginn (Beginn der negativen Potentialänderung, s. Abb. 2.7.) an der ersten Elektrode, die eine SD misst, wurde in einem zeitlich definierten Abstand für jeden Reizort der Anteil der Messungen ermittelt, bei denen der 50%-Wert unter den einzelnen Elektroden erreicht wurde. Somit konnte für den jeweiligen Reizort (bzw. Reizmodalität bei kaudaler Reizung) zusammenfassend ein grober zeitlicher und räumlicher Propagationsverlauf beschrieben werden. Abb. 2.8. zeigt anhand eines Beispiels nach kaudaler elektrischer Reizung (Tier 5 und 6) den Anteil der Messungen in %, bei denen 40 bzw. 80 s nach Depolarisationsbeginn unter den jeweiligen Elektroden der 50%-Wert erreicht wurde. Hier konnte für alle Messungen von Tier 5 und 6 eine Propagation in kaudo-rostrale Richtung dargestellt werden.

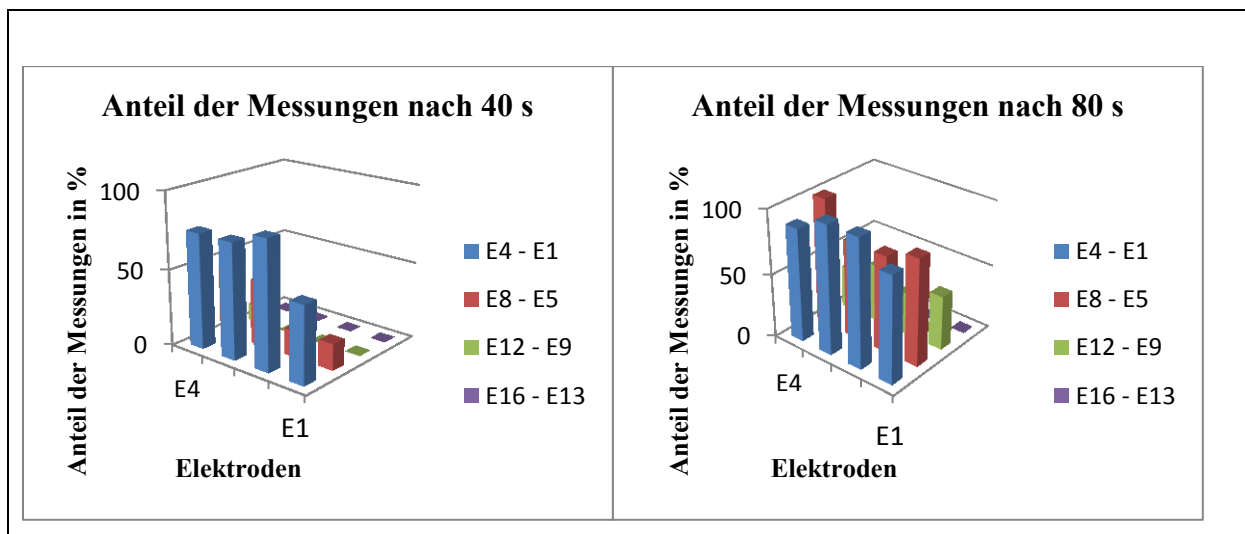


Abb. 2.8: Anteil der Messungen in %, bei denen 40 bzw. 80 s nach Depolarisationsbeginn unter den einzelnen Elektroden der 50%-Wert erreicht wurde, nach kaudaler elektrischer Reizung.

Aufgrund unterschiedlicher Latenzen zwischen Depolarisationsbeginn an der ersten Elektrode und dem Auftreten der frühzeitigsten 50%-Werte sowie unterschiedlicher Latenzen zwischen dem Auftreten der 50%-Werte unter den einzelnen Elektroden variierten die Zeitabstände in den Darstellungen nach kaudaler KCl- und elektrischer, lateraler bzw. rostraler Reizung. So

zeigte sich nach kaudaler KCl-Reizung eine mittlere Latenz von 38 ± 12 s zwischen Depolarisationsbeginn und frühzeitigstem 50%-Wert. Nach kaudaler elektrischer Reizung betrug diese 22 ± 8 s, so dass für die erste Darstellung der KCl-Gruppe ein zeitlicher Abstand von 40 s nach Depolarisationsbeginn und von 20 s für die elektrische Gruppe gewählt wurde. Auch wurden die definierten Zeitintervalle den unterschiedlichen Latenzen zwischen dem Erreichen der 50%-Werte unter den Elektroden angepasst. Da diese bei den KCl-Tieren geringer waren, wurde die Propagation in 10s-Abständen veranschaulicht. Hingegen wurden bei den kaudal elektrisch gereizten Tieren 20s-Abstände gewählt.

2.6.4. Ermittlung der Propagationsgeschwindigkeit

Die Propagationsgeschwindigkeit in kaudo-rostrale, rostro-kaudale bzw. latero-mediale Richtung wurde anhand der Zeitpunktdifferenz des Erreichens des 50%-Wertes zwischen den am weitesten kaudal bzw. rostral, rostral bzw. kaudal und lateral bzw. medial gelegenen Elektroden bestimmt. Ausgehend von der mittleren Latenz des Erreichens der 50%-Werte in allen vier Reihen wurde die Geschwindigkeit in die jeweilige Richtung berechnet (s. Abb. 2.9.). Voraussetzung war, dass unter allen 4 Elektroden einer Reihe eine Depolarisation gemessen wurde bzw. ein 50%-Wert ermittelt werden konnte und in mindestens einer Elektrodenreihe ein zeitlicher Verlauf der SD anhand des 50%-Wertes erkennbar war.

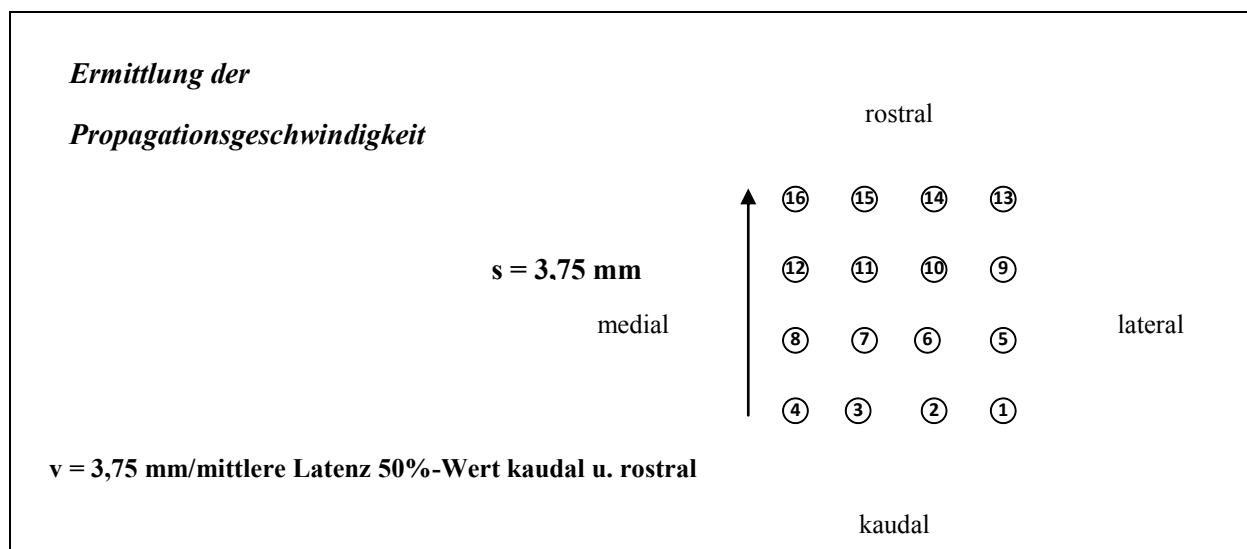


Abb. 2.9: Errechnung der Propagationsgeschwindigkeit (v) unter dem Elektrodenarray von kaudal nach rostral anhand der mittleren Latenz des Erreichens der 50%-Werte zwischen den am weitesten kaudal und rostral gelegenen Elektroden bei einem Abstand von 3,75 mm.

2.6.5. Festlegung des ECoG-Signalbereiches

Um die zeitlichen Beziehungen zwischen dem Auftreten der ECoG- und MEG-Veränderungen zu analysieren, wurden für beide Signale Zeitbereiche definiert, in denen signifikante Potential- bzw. Magnetfeldänderungen in allen Kanälen messbar waren. Da die Depolarisation unmittelbar am Reizort (und somit außerhalb des Elektrodenarrays) aufgrund der Versuchsanordnung nicht erfasst wurde, entspricht der ECoG-Signalbereich in der vorliegenden Arbeit der Dauer des Gesamtereignisses unter dem Elektrodenarray und beginnt mit der Elektrode, die als Erstes eine Depolarisation misst. Die Definition des Signalendes bzw. Ende der Repolarisation unter den einzelnen Elektroden war schwierig, da das Signal nach der Repolarisation oft die Nulllinie nicht wieder erreichte und auf einem neuen Niveau sistierte. Mögliche Ursachen können lang anhaltende Trends im Rahmen von Messartefakten sein. Vier Depolarisationen (Tier 3 KCl, Messung 1) zeigten jedoch einen Rückgang des Potentials zur Nulllinie nach Repolarisation, so dass für die jeweilige Elektrode ein Ereignisende ermittelt werden konnte. Der Mittelwert von 211 ± 9 s wurde daher als Dauer des SD-Gesamt ereignisses angenommen und dient als Grundlage für die Festlegung des ECoG-Signalbereiches für alle weiteren Messungen (s. Abb. 2.10.). Im Rahmen der Repolarisation wurde häufig ein überschießendes positives Potential vor Erreichen des Ausgangsniveaus beobachtet, welches bei der Ermittlung der Signaldauer berücksichtigt wurde.

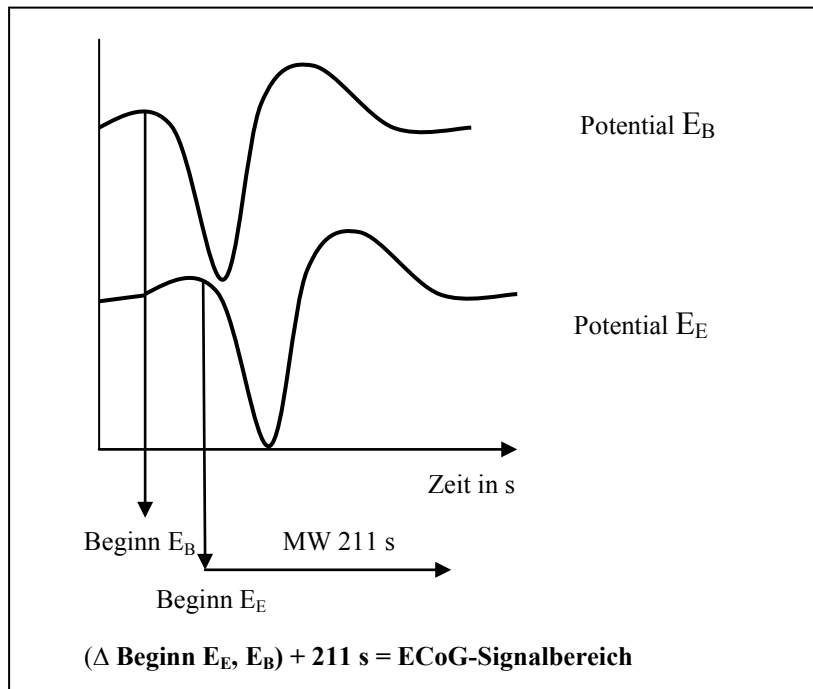


Abb. 2.10: Schematische Darstellung des ECoG-Signalbereiches,
 E_B = Depolarisationsbeginn an der Elektrode, die als Erstes eine SD erfasst,
 E_E = Depolarisationsbeginn an der Elektrode, die als Letztes eine SD erfasst,
 $\Delta \text{Beginn } E_E, E_B$ = zeitliche Differenz zwischen Beginn an der Elektrode, die
als Erstes bzw. als Letztes eine SD erfasst, MW = Mittelwert.

2.7. Auswertung des Magnetencephalogrammes

2.7.1. Datenvorverarbeitung

Analog zur Datenvorverarbeitung im ECoG wurden die Messdaten mit einem Tiefpass von 0,01 Hz gefiltert. Da auch hier unterschiedliche Trends erfasst wurden, erfolgte die lineare Trendelimination anhand zweier Zeitintervalle von jeweils mindestens 50 s Dauer, im Mittel $103 \pm 35 \text{ s}$, vor und nach dem interessierenden Signal. Die Zeitintervalle wurden so ausgewählt, dass ausgeschlossen war, dass sie Signalveränderungen auf Grund einer SD enthielten. Die Zeitintervalle sollten möglichst genau die Beschreibung des linearen Trends ermöglichen. In einigen Fällen zeigten sich frühzeitig SD-typische Magnetfeldveränderungen, so dass zur Ermittlung des Trends zwei Zeitbereiche im Anschluss an das Signal ausgewählt wurden, zwischen denen mindestens ein Abstand von 50 s lag. Einzelne Kanäle (maximal fünf), die trotz Datenvorverarbeitung lang anhaltende Trends zeigten und eine Amplitudenänderung $< 200 \text{ fT}$ aufwiesen, wurden nicht in die Auswertung einbezogen, da sie

mit hoher Wahrscheinlichkeit nicht im Zusammenhang mit dem von uns ausgelösten SD-Ereignis standen.

2.7.2. Spreading Depolarisation-assozierte Magnetfeldveränderungen

Der Verlauf SD-assoziierter MEG-Veränderungen ist aus der Literatur bekannt (Gardner-Medwin et al. 1991, Bowyer et al. 1999a, Bowyer et al. 1999b) und durch langsame Amplitudenzu- oder abnahmen in einzelnen MEG-Kanälen charakterisiert. Die Detektionsspulen der Antennen erfassen aus- und eintretende Magnetfeldlinien, die sich in positiven und negativen Ausschlägen im 16-Kanal-MEG (s. Abb. 2.11.A) widerspiegeln. Anhand einer zweidimensionalen Darstellung der erfassten Magnetfeldstärken zu jedem Zeitpunkt lässt sich eine grobe Abschätzung der intrazerebralen Stromflussrichtung darstellen, indem die Verteilung des Magnetfeldes mit positivem Vorzeichen (austretende Magnetfeldlinien) und negativem Vorzeichen (eintretende Magnetfeldlinien) rekonstruiert wird (s. Abb. 2.11.B).

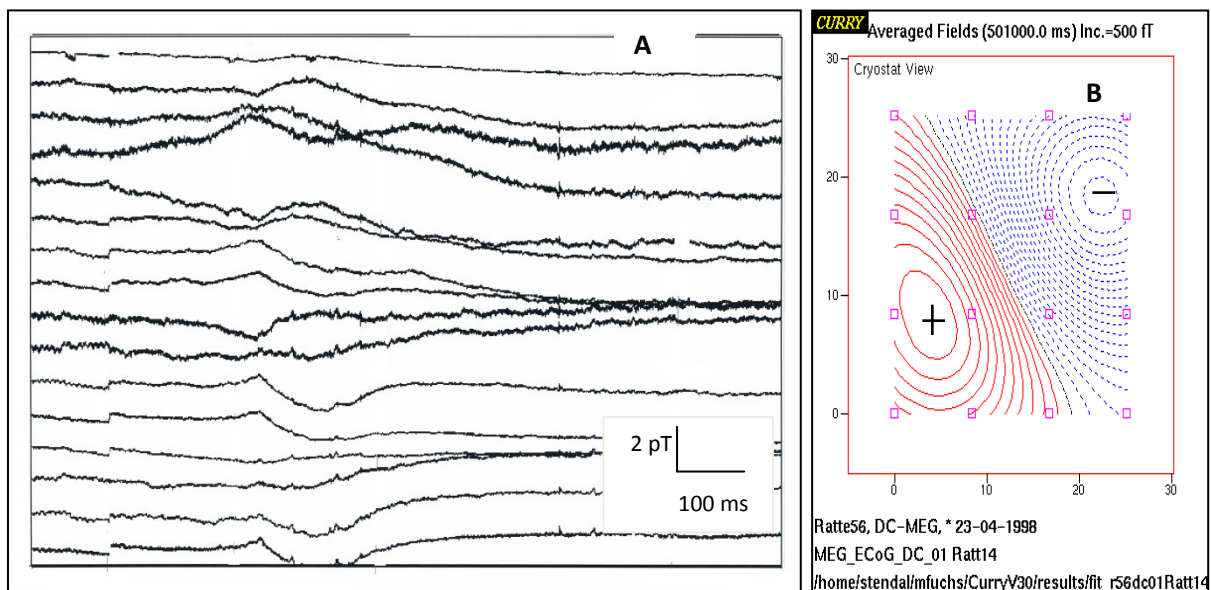


Abb. 2.11: (A) Typische SD-assozierte Magnetfeldveränderungen in den Kanälen 1-16, x-Achse: Zeit in ms, y-Achse: Magnetfeldstärke in pT-Bereich (B) Darstellung der Magnetfeldisolines mit aus (rot)- und eintretenden (blau) Magnetfeldlinien, rosa Vierecke innerhalb des Magnetfeldes: Antennen 1-16; am Beispiel Tier 4, Messung 1 nach KCl-Reizung.

2.7.3. Mittlere globale Magnetfeldstärke (MGFP)

Ein geeigneter Parameter für eine summarische Beschreibung der Magnetfeldveränderungen über die Zeit stellt die mittlere globale Magnetfeldstärke dar. Ein wesentlicher Teil der vorliegenden Arbeit umfasste die Charakterisierung der zeitlichen Beziehungen der simultan erfassten elektrischen und magnetischen Signalveränderungen. Daher wurde vorrangig das zeitliche Verlaufsmuster der mittleren globalen Magnetfeldstärke (MGFP), die sich aus den Hauptkomponenten (s. Kapitel 2.7.5.) des MEG-Signales berechnet, analysiert. Die MGFP errechnet sich aus folgender Formel:

$$MGFP(t_n) = \sqrt{\frac{1}{m} \sum_{i=1}^m x_i(t_n)^2}$$

Dabei stellt m die Anzahl der Kanäle ($m=16$) und $x_i(t_n)$ das gemessene MEG-Signal des i -ten Kanals zum Zeitpunkt t_n dar. Die MGFP wurde fortlaufend für jeden Zeitpunkt bestimmt. Ein Anstieg der MGFP korrespondierte mit einem signifikanten intrazerebralen Strom tangential zur Kortexoberfläche unterhalb des Antennenarrays.

2.7.4. Festlegung des MEG-Signalsbereiches anhand der MGFP

Aufgrund der spontanen Hintergrundaktivität der Zellen des ZNS ist auch ohne das Auftreten einer SD die MGFP verschieden von Null. Um nun zu ermitteln, wann es zu einer signifikanten Veränderung der MGFP kommt, wurde in einem Zeitbereich ohne das Auftreten einer SD der Mittelwert der MGFP und das 1,96fache der Standardabweichung ermittelt. Eine Zunahme der MGFP, die stärker war als der Mittelwert + das 1,96fache der Standardabweichung, wurde als signifikant bewertet. Die Zeitpunkte, zu denen die Werte den Schwellenwert überstiegen bzw. unter ihn zurückfielen, markierten den Signalbeginn bzw. das Signalende. Somit konnte ein Zeitbereich für die SD-assoziierten Magnetfeldveränderungen definiert werden (= MEG-Signalsbereich (s. Abb. 2.12.)). Ein Maximum zwischen Beginn und Ende wurde als Peak bezeichnet, dessen Zeitpunkt anhand der 1. Ableitung nach der Zeit ermittelt wurde. Mehrere Peaks lagen vor, wenn zwischen erstem und zweitem Peak eine Abnahme der MGFP um mindestens 30% oberhalb des Schwellenwertes beobachtet wurde.

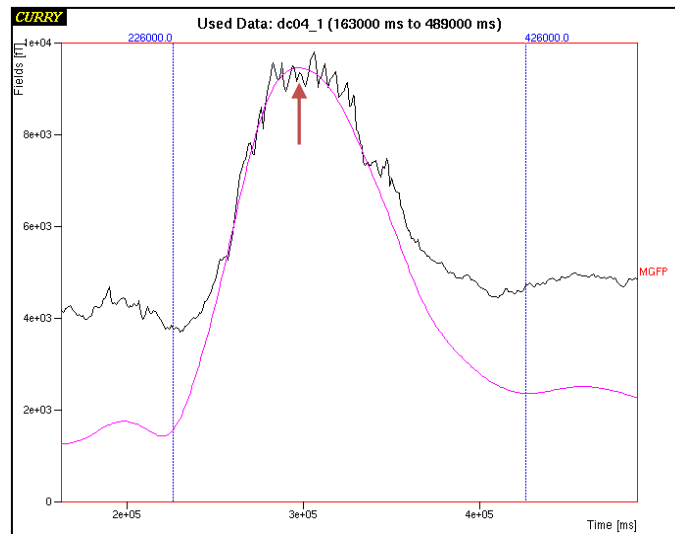


Abb. 2.12: Definition des MEG-Signalsbereiches, blau: Signalbeginn bzw. -ende, roter Pfeil: Kennzeichnung des Peaks; schwarze Kurve: Rohsignal, rosa Kurve: gefiltertes Signal (Tiefpass 0,01 Hz); am Beispiel Tier 4, Messung 4 nach KCl-Reizung.

Nicht in jedem Fall waren die Antennen so über dem Rattenkortex positioniert, dass aus- und eintretende Magnetfeldlinien erfasst wurden. In solchen Fällen ($n=10$) war kein signifikanter Anstieg der MGFP zu verzeichnen, so dass jeweils drei Kanäle ausgewählt wurden, die eine Amplitudenänderung > 500 fT zeigten. Anschließend wurde der MEG-Signalsbereich für das jeweilige Ereignis aus dem Mittelwert dieser drei Zeitintervalle ermittelt.

2.7.5. Hauptkomponentenanalyse

Trotz aktiver und passiver Abschirmung war der MGFP-Wert bei Messung der Spontanaktivität verschieden von Null. Das mag seine Ursache darin haben, dass durch das Antennenarray Störfelder von außerhalb der Kammer erfasst wurden, aber auch die neuronale Aktivität zerebraler Neurone stets kleine Magnetfelder erzeugten. Um SD-bedingte MGFP-Veränderungen klar von dieser „Hintergrundaktivität“ abzugrenzen, wurde die Hauptkomponentenanalyse angewandt. Dies ist eine in der Literatur beschriebene Möglichkeit der Artefaktkorrektur (Kastner et al. 2002), um langsame kontinuierliche MEG-Veränderungen, die nicht im Zusammenhang mit dem interessierenden Ereignis stehen und ihre Quellen andernorts haben, zu eliminieren. Die Informationen aus den Signalen der 16

Kanäle werden anhand ihrer Varianz in feste räumliche Muster und deren Zeitverläufe unterteilt. Das MEG-Signal wurde in einzelne Hauptkomponenten zerlegt, die in absteigender Reihenfolge Anteile der Varianz des Signales beschreiben. Die erste Hauptkomponente enthielt somit den größten Signalanteil. Die Hauptkomponentenanalyse wurde für jedes SD-Ereignis durchgeführt. In Fällen ($n=3$), in denen die 1. Hauptkomponente visuell einen stetig zunehmenden nichtlinearen Trend ohne SD-assoziierte Veränderungen innerhalb des interessierenden Zeitintervalls anzeigte, wurde diese eliminiert.

3. Ergebnisse

In der vorliegenden Arbeit wurden bei 10 Ratten 38 SD-Ereignisse mittels kortikaler KCl-Applikation oder tetanischer elektrischer Stimulation ausgelöst. Mit Hilfe des simultanen 16-Kanal-Elektrokortikogrammes und 16-Kanal-Magnetencephalogrammes wurden die räumlichen und zeitlichen Ausbreitungsmuster einer SD beschrieben und die zeitlichen Beziehungen der elektrischen und magnetischen Veränderungen analysiert. Um mögliche Spezifika in der Propagation in Abhängigkeit vom Reizort zu untersuchen, wurden 6 Tiere (davon 4 durch KCl und 2 durch elektrische Stimulation) kaudal, 2 Tiere lateral und 2 Tiere rostral gereizt.

3.1. Eigenschaften der Spreading Depolarisations im Elektrokortikogramm

Es wurden 38 Ereignisse beobachtet, welche die Kriterien einer Spreading Depolarisation erfüllten (s. Kapitel 2.6.1.), und deren Propagationsmuster unter dem Elektrodenarray beschrieben. Bei kaudaler Reizung wurden SDs durch KCl-Applikation oder elektrische tetanische Stimulation, bei lateraler und rostraler Reizung durch elektrische Stimulation ausgelöst. Unabhängig von der Reizmodalität und dem Stimulationsort wurden im ECoG Depolarisationen erfasst, die den in der Methode definierten Kriterien entsprachen. Dabei konnten nach kaudaler und rostraler Reizung intra- und interindividuell variierende, nach lateraler Reizung relativ gleichförmige Propagationsmuster unter dem Elektrodenarray beobachtet werden. Der Verlauf der Potentialänderung zeigte initial häufig ein kurzzeitiges positives Vor-Potential, gefolgt von einer langsamen negativen Potentialänderung, die bei allen Depolarisationen gleich war. Im Rahmen der Repolarisation war vor Rückkehr zum Ausgangsniveau häufig eine positive Potentialänderung zu verzeichnen, die bei der Ermittlung der Ereignisdauer berücksichtigt wurde (s. Kapitel 2.6.5.).

Bei kaudaler Reizung zeigte sich nach der SD bei vier Messungen nach einem mittleren Zeitintervall von $3,72 \pm 2$ min ein zweites Signal, welches ebenfalls die Kriterien einer SD erfüllte. Da nicht klar ist, ob dieses im Zusammenhang mit dem von uns ausgelösten SD-Ereignis steht, wurde von der weiteren Auswertung dieser Ereignisse Abstand genommen.

3.1.1. Maximale Depolarisationsamplituden im Elektrokortikogramm

Es wurden mittlere Depolarisationsamplituden von $-3,32 \pm 1,2$ mV nach kaudaler, $-6,7 \pm 1,93$ mV nach lateraler bzw. $-2,51 \pm 2,56$ mV nach rostraler elektrischer Reizung erfasst. Nach kaudaler KCl-Reizung zeigten sich mittlere Amplitudenwerte von $-1,45 \pm 0,9$ mV. Die höchsten Amplitudenwerte waren nach lateraler elektrischer Reizung zu verzeichnen, wobei Maximalwerte von $-14,88$ mV rostral-lateral unter E13 (Tier 7) und $-10,74$ mV kaudal-lateral unter E5 (Tier 7) bei mittleren Werten von $-6,7 \pm 1,93$ mV detektiert wurden.

Das Ausmaß der Depolarisation zeigte intraindividuell unter den jeweiligen Elektroden häufig nur geringe Schwankungen; jedoch konnten im Bereich des Elektrodenarrays variierende Amplitudenwerte gemessen werden. So fanden sich unter der Elektrode E1 nach lateraler Reizung bei Tier 7 intraindividuell Werte von $-5,22 \pm 0,93$ mV; insgesamt wurden hier jedoch Werte von $-6,54$ mV bis $-14,88$ mV unter dem Elektrodenarray beobachtet (Tier 7, Messung 1). Hinsichtlich der Verteilung der Depolarisationsamplituden unter dem Elektrodenarray war bei 17 Ereignissen eine tendenzielle Zu- bzw. Abnahme der Amplitudenwerte in kaudorostrale oder latero-mediale Richtung zu erkennen. In den übrigen Ereignissen zeigte sich keine Tendenz unter dem Elektrodenarray; vielmehr war im Verlauf der SD eine wechselnde Zu- oder Abnahme der Depolarisationsamplituden zu beobachten.

Sowohl nach kaudaler, lateraler als auch rostraler Reizung zeigte sich, dass die zunehmende Entfernung vom Stimulationsort nicht zwingend mit einer Amplitudenabnahme verbunden war. So konnte z.B. nach kaudaler elektrischer Reizung einmal ein Maximalwert von $-4,77$ mV kaudal-lateral unter E1 (Tier 5) und ein anderes Mal von $-4,99$ mV (Tier 5) oder $-6,51$ mV (Tier 6) rostral-lateral unter E13 gemessen werden.

Unabhängig vom Reizort war unter den lateral gelegenen Elektroden (E1, E5, E9 und E13) das Ausmaß der Depolarisation am stärksten. So wurden nach kaudaler KCl-Reizung bei 10 von 13 Ereignissen, nach kaudaler elektrischer Reizung bei allen 12 Ereignissen, nach lateraler Reizung bei allen 9 Ereignissen und nach rostraler Reizung bei 3 von 4 Ereignissen die höchsten Amplitudenwerte unter den lateralen gelegenen Elektroden detektiert.

Zusammenfassend konnten für alle Ereignisse unterschiedliche Ausmaße der Depolarisationsamplituden unter dem Elektrodenarray mit teilweise tendenzieller Zu- oder Abnahme der Werte im Verlauf der SD beschrieben werden. Die zunehmende Entfernung vom Reizort war sowohl nach kaudaler, lateraler und rostraler Reizung nicht immer mit einer Abnahme der Depolarisationsamplitude verbunden. Zudem konnten trotz der

unterschiedlichen Reizorte die stärksten Depolarisationen signifikant häufig unter den lateralen Abschnitten gemessen werden.

3.1.2. SD-Ausbreitung – zeitliche und räumliche Muster im Elektrokortikogramm

Im ECoG konnte anhand des Zeitpunktes, zu dem die Hälfte der maximalen Depolarisationsamplitude erreicht wurde, hier 50%-Wert genannt (s. Kapitel 2.6.3.), für jedes SD-Ereignis eine Propagation der SD-Welle beschrieben werden. Anhand des 50%-Wertes war, in vereinfachter Form, unter dem Array eine Propagation in kaudo-rostrale Richtung nach kaudaler Reizung, in latero-mediale Richtung nach lateraler Reizung und in rostro-kaudale Richtung nach rostraler Reizung erkennbar (s. Abb. 3.1.). Das 16-Kanal-ECoG mit der in dieser Untersuchung möglichen hohen räumlichen Auflösung erlaubt eine differenzierte Analyse der kortikalen Ausbreitung unter dem Elektrodenarray. Dabei konnten teilweise sehr komplexe Propagationsmuster mit häufig wechselnder Orientierung unter den Elektroden beschrieben werden. So war in einigen Fällen (n=14) nach kaudaler Reizung auch eine latero-mediale oder medio-laterale Ausrichtung der SD-Welle erkennbar (s. Abb. 3.1.).

Während nach kaudaler und rostraler Reizung zeitlich und räumlich variierende Muster im Verlauf von kaudal nach rostral bzw. von rostral nach kaudal beobachtet wurden, zeigten sich nach lateraler Reizung vergleichsweise gleichförmige Muster bei Ausbreitung der SD- Welle von lateral nach medial. Somit wird die Propagation von kaudal nach rostral und umgekehrt stärker modifiziert als die Propagation von lateral nach medial.

Abb. 3.1. zeigt eine zusammenfassende Darstellung der räumlichen Verläufe der SD-Welle nach kaudaler, lateraler und rostraler Reizung. Dabei muss v.a. nach kaudaler und rostraler Reizung zwischen groben und komplexeren Verlaufsformen mit häufig wechselnder Orientierung unterschieden werden (s. Abb. 3.1.).

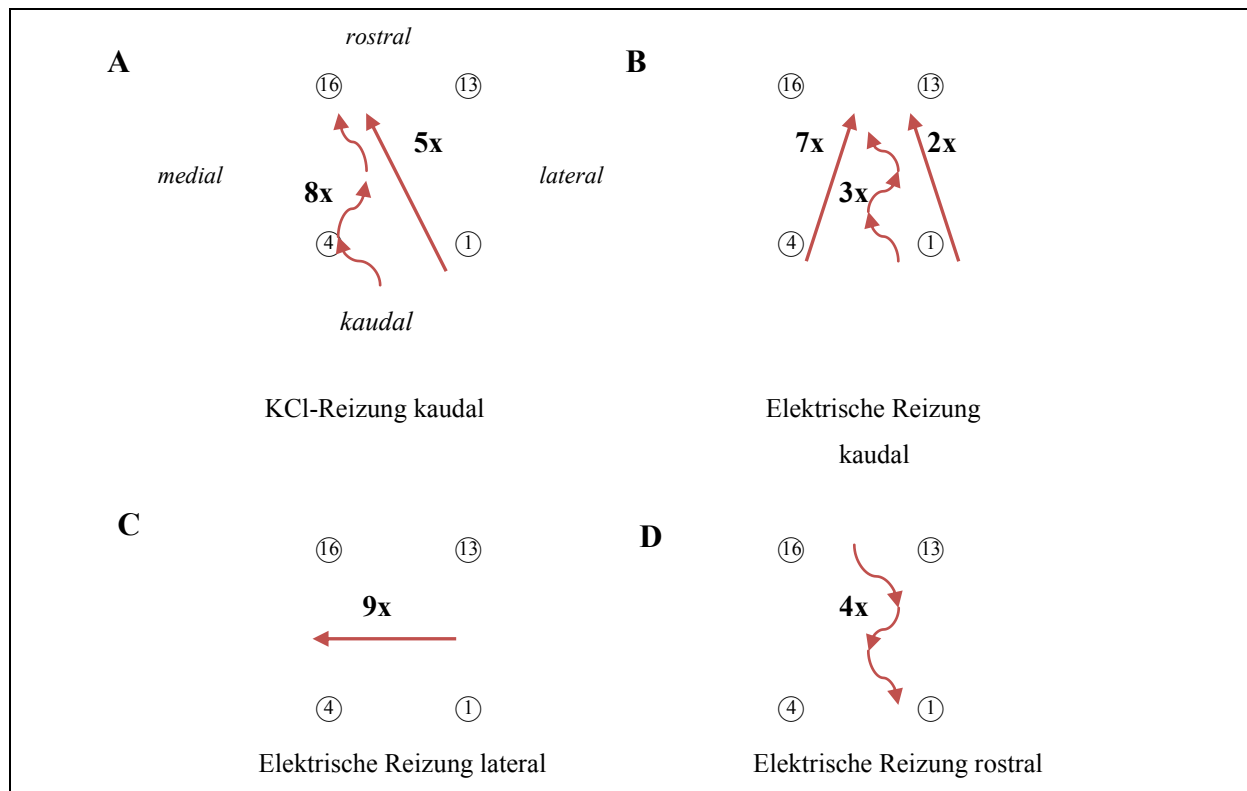


Abb. 3.1: Schematische Darstellung der groben (gerade Linie) und komplexeren (geschlängelte Linie) Verlaufsrichtung der SD-Wellenfront nach kaudaler KCl (A)- und elektrischer Reizung (B), lateraler elektrischer Reizung (C) und rostraler elektrischer Reizung (D).

3.1.3. Propagationsgeschwindigkeiten unter dem Elektrodenarray

Nach elektrischer Stimulation betrug die mittlere Propagationsgeschwindigkeit unter dem Elektrodenarray $2,82 \pm 0,45$ mm/min (ermittelt aus 12 Ereignissen) nach kaudaler Reizung, $5,33 \pm 1,37$ mm/min (ermittelt aus 9 Ereignissen) nach lateraler Reizung und $2,72 \pm 0,46$ mm/min (ermittelt aus 4 Ereignissen) nach rostraler Reizung. Nach kaudaler KCl-Reizung zeigte sich eine mittlere Geschwindigkeit von $6,11 \pm 2,55$ mm/min (ermittelt aus 8 Ereignissen). Tab. 3.1. fasst die Propagationsgeschwindigkeiten, ermittelt aus der mittleren Latenz zwischen den am weitesten voneinander entfernt gelegenen Elektroden (s. Kapitel 2.6.4.), zusammen.

Tab. 3.1: Propagationsgeschwindigkeiten der einzelnen Messungen (Tier 1-10)

Tier	Reizort	Messung	Geschw. (mm/min)	Tier	Reizort	Messung	Geschw. (mm/min)
1 KCl	kaudal	1	-	6 elektr.	kaudal	1	3,07
		2	-			2	3,41
		3	-			3	3,35
						4	2,27
5	1,97						
2 KCl	kaudal	1	5,36	7 elektr.	lateral	1	5,14
		2	8,33			2	3,95
		3	2,68			3	3,54
						4	3,68
3 KCl	kaudal	1	-	8 elektr.	lateral	1	6,47
		2	10,42			2	6,82
		3	-			3	7,21
						4	5,68
5	5,51						
4 KCl	kaudal	1	7,08	9 elektr.	rostral	1	2,39
		2	6,82			2	2,35
		3	3,68			3	2,83
		4	4,52				
5 elektr.	kaudal	1	3,23	10 elektr.	rostral	1	3,33
		2	3,26				
		3	2,62				
		4	2,57				
		5	2,62				
		6	2,82				
		7	2,62				

3.2. Eigenschaften der Spreading Depolarisation im Magnetencephalogramm

Spreading Depolarisation-assoziierte Magnetfeldveränderungen (s. Kapitel 2.7.2.) wurden bei 31 von 38 SD-Ereignissen erfasst. In dieser Arbeit lag der Schwerpunkt in der Charakterisierung der zeitlichen Dynamik der simultan erfassten Magnetfeld- und ECoG-Veränderungen, so dass vordergründig die MGFP (s. Kapitel 2.7.3.) analysiert wurde. Anhand des Verlaufes der MGFP wurde ein Zeitintervall (MEG-Signalbereich) ermittelt, in welchem eine signifikante Zunahme der Magnetfeldstärke gemessen wurde. Nach den hier erarbeiteten Kriterien (s. Kapitel 2.7.4.) traten MGFP-Verläufe mit einem Signalmaximum – Peak (n=9) und zwei (n=12) Signalmaxima auf. Bei 10 Ereignissen konnte kein signifikanter MGFP-Anstieg nachgewiesen werden.

Unabhängig vom Stimulationsort wurden am häufigsten MGFP-Verlaufsmuster mit zwei Peaks beobachtet. Da sowohl inter- als auch intraindividuell verschiedene MGFP-Verlaufsmuster auftraten, konnten weder den Reizorten noch den Propagationsmustern im ECoG spezifische MEG-Signalverläufe zugeordnet werden.

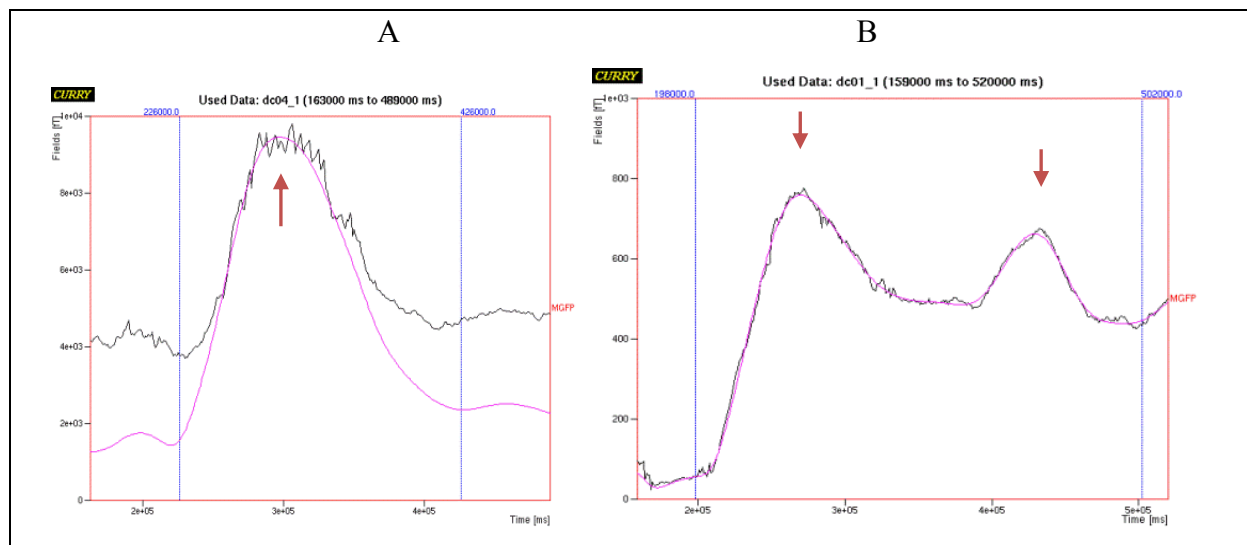


Abb. 3.2: Beispiel für MGFP-Verlaufsmuster mit (A) einem Signalmaximum und (B) zwei Signalmaxima, roter Pfeil: Kennzeichnung des Peaks, blaue Linie: Kennzeichnung des MEG-Signalbereiches.

3.3. SD in Abhängigkeit vom Reizort

Um Aussagen über den räumlichen und zeitlichen Verlauf in Abhängigkeit vom Reizort machen zu können, wurden SD-Ereignisse in verschiedenen kortikalen Arealen (kaudal, lateral und rostral des Elektrodenarrays) ausgelöst. Im Folgenden werden Unterschiede bezüglich der Propagationsmuster sowie der Verteilung der Depolarisationsamplituden im ECoG zusammengefasst und die simultan erfassten MEG-Veränderungen analysiert.

3.3.1. Spreading Depolarisation nach kaudaler Stimulation mit KCl und elektrischer Reizung

Bei kaudaler kortikaler SD-Auslösung wurden zwei Reizmodalitäten angewandt, infolge derer Unterschiede hinsichtlich der Häufigkeit des Auftretens der Depolarisationen unter den einzelnen Elektroden, der zeitlichen Propagation, sowie der Depolarisationsamplituden im ECoG nachweisbar waren. Bei vier Versuchstieren wurden SDs mittels KCl ausgelöst, bei zwei Tieren mittels tetanischer elektrischer Reizung.

3.3.1.1. Spreading Depolarisations im 16-Kanal-Elektrokortikogramm

Nach Stimulation mit KCl wurde unter den rostral lateral gelegenen Elektroden (E9, E10, E14 und E15) häufiger eine SD-Depolarisation als unter den kaudalen Elektroden gemessen. In nur drei Messungen wurde kaudal lateral, dem Reizort am nächsten liegend, unter E1 eine SD detektiert. Ebenso zeigten die medial gelegenen Elektroden mehrfach kein SD-Signal. Hingegen war nach kaudaler elektrischer Stimulation unter den kaudalen und lateralen Elektroden (E1 – E3, E5 und E6, E9 – E11, E13 – E15) in allen Messungen (n=12) eine SD zu verzeichnen. Die medialen Elektroden E4, E7, E8, E12 und E16 zeigten vereinzelt auch hier keine SD-Depolarisation. Abb. 3.3. und Abb. 3.4. veranschaulichen für beide Reizmodalitäten den Anteil der Messungen (%), bei denen unter den Elektroden E1 – E16 eine SD erfasst werden konnte.

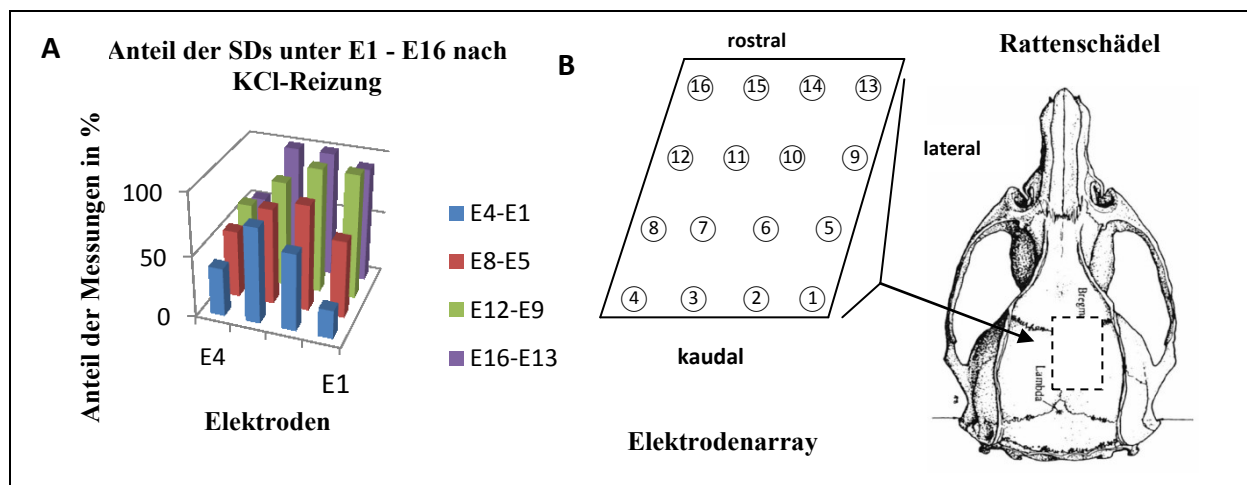


Abb. 3.3: (A) Anteil der Messungen in Prozent, bei denen durch die jeweilige Elektrode eine SD erfasst wurde (Gesamtzahl n=13); nach KCl-Reizung; (B) Lage der Elektroden in Bezug zum Rattenschädel.

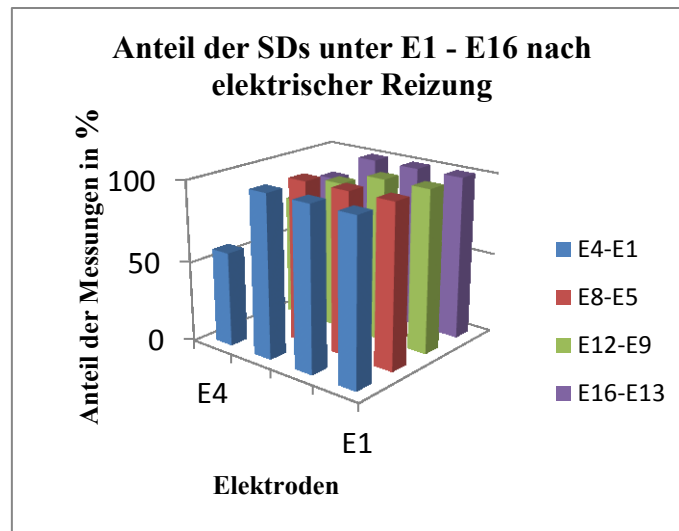


Abb. 3.4: Anteil der Messungen, bei denen nach elektrischer Reizung durch die jeweilige Elektrode eine SD erfasst wurde (Gesamtzahl n=12).

3.3.1.2. SD-Ausbreitung - zeitliche und räumliche Muster anhand des 50%-Wertes im Elektrokortikogramm

Nach Stimulation mit KCl wurde der Depolarisationsbeginn (= Beginn der negativen Potentialänderung an der ersten Elektrode, die eine SD misst) nach einem mittleren Zeitintervall von 350 ± 98 s unter den kaudal gelegenen Elektroden (E1-E4) detektiert. Dabei betrug die mittlere Distanz zwischen der Mitte des Bohrloches zu E1 5,6 mm und 6,4 mm zu E4. Nach elektrischer Reizung betrug dieses Zeitintervall 67 ± 93 s bei einem Abstand der Reizelektrode zur kaudalen Elektrodenreihe von 2 mm. Die frühzeitigsten 50%-Werte wurden bei kaudaler Stimulation stets unter den kaudalen Elektroden (E1 – E4) gemessen. Anschließend konnte eine Ausbreitung der SD-Wellenfront in rostraler Richtung beobachtet werden. Dabei war anhand der 50%-Werte keineswegs ein gleichförmiger Verlauf unter dem Elektrodenarray zu verzeichnen; vielmehr wurden innerhalb einer Messung oft die 50%-Werte in der zweiten oder sogar dritten Elektrodenreihe gemessen, bevor diese unter allen Elektroden der ersten Reihe erreicht wurden. Zudem zeigte sich intraindividuell häufig eine wechselnde Orientierung der SD. So wurde in einem Fall zuerst durch die medio-kaudalen Elektroden die SD erfasst und beim selben Tier die darauffolgende SD durch die latero-kaudalen Elektroden. Abb. 3.5. zeigt ein typisches Beispiel (Tier 4, Messung nach KCl-Reizung) für ein Propagationsmuster unter dem Elektrodenarray mit zugehörigem ECoG.

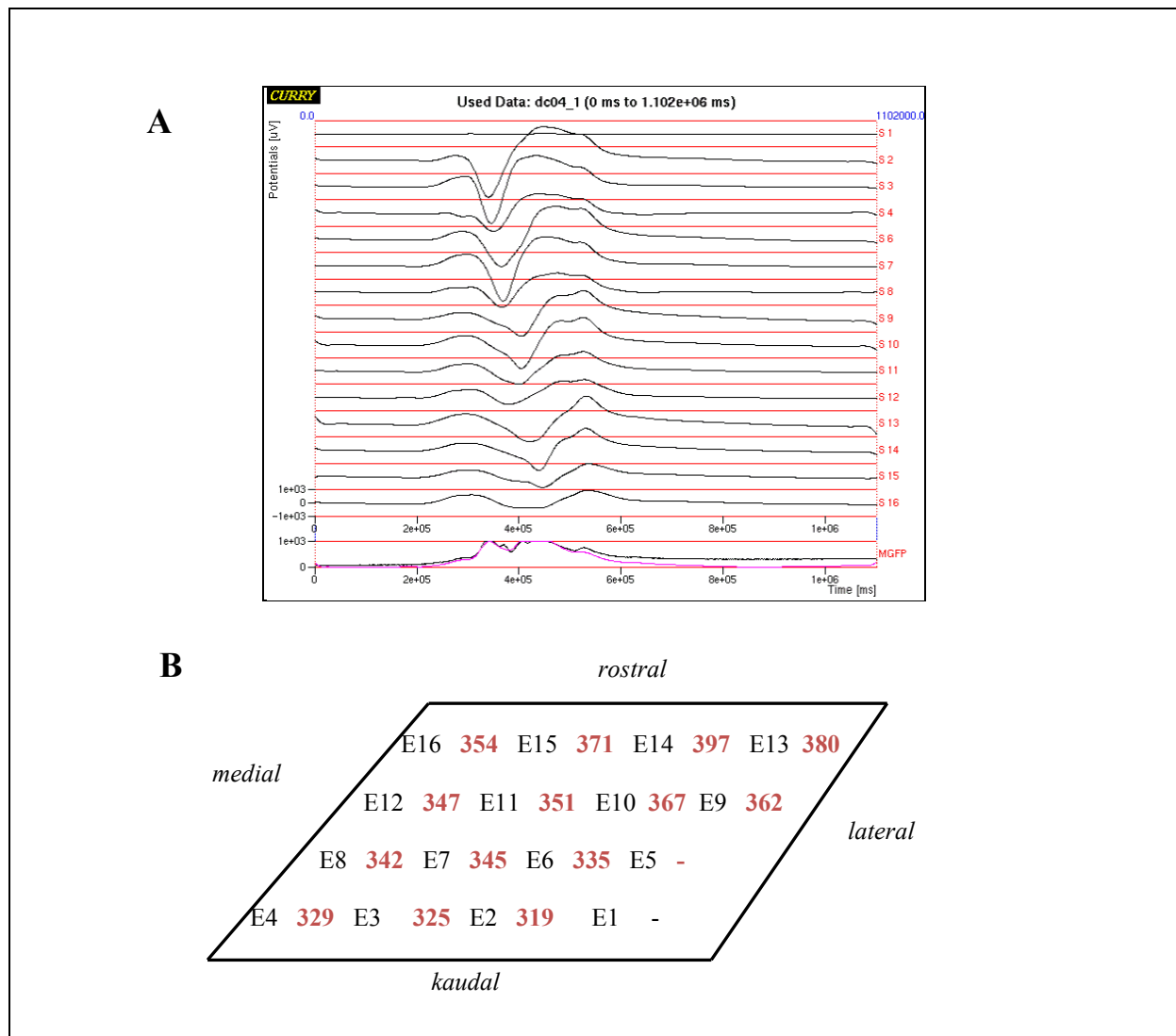


Abb. 3.5: (A) ECoG nach kaudaler KCl Reizung, oben Kanal 1, unten Kanal 16 mit typischem Verlauf der SD-Depolarisationen (B) Schematische Darstellung des zeitlichen Verlaufsmusters anhand des Auftretens der 50%-Werte unter dem Elektrodenarray nach kaudaler KCl-Reizung, rot: Zeitpunkt [s] der Erfassung des 50%-Wertes nach Reizbeginn (Tier 4, Messung 4).

Zur besseren Veranschaulichung der Ausbreitung der Depolarisation zeigen die folgenden Darstellungen den prozentualen Anteil der Messungen, bei denen nach 40, 50, 60, 70, 80 und 100 s nach KCl-Reizung bzw. 20, 40, 60, 80, 100 und 120 s nach elektrischer Reizung der 50%-Wert unter den jeweiligen Elektroden erreicht wurde. Die Zeitwerte beziehen sich dabei auf den Depolarisationsbeginn (=Beginn der negativen Potentialänderung an der ersten Elektrode, die in jeder Messung eine SD erfasst, s. Kapitel 2.6.3.1.).

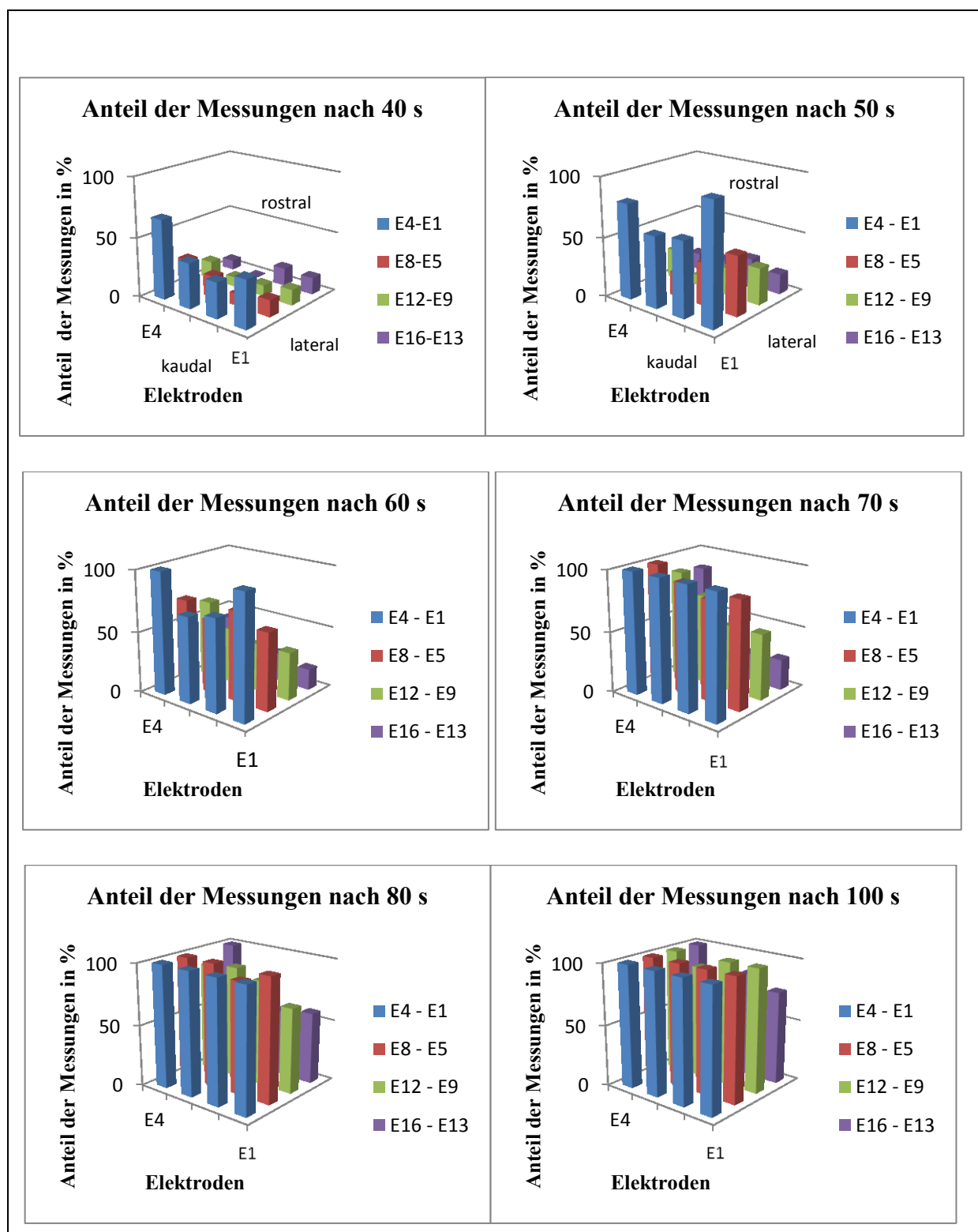


Abb. 3.6: Anteil der Messungen in Prozent, bei denen nach 40, 50, 60, 70, 80 und 100 s nach Depolarisationsbeginn jeder Messung unter der jeweiligen Elektrode der 50%-Wert erreicht wurde, nach KCl-Reizung.

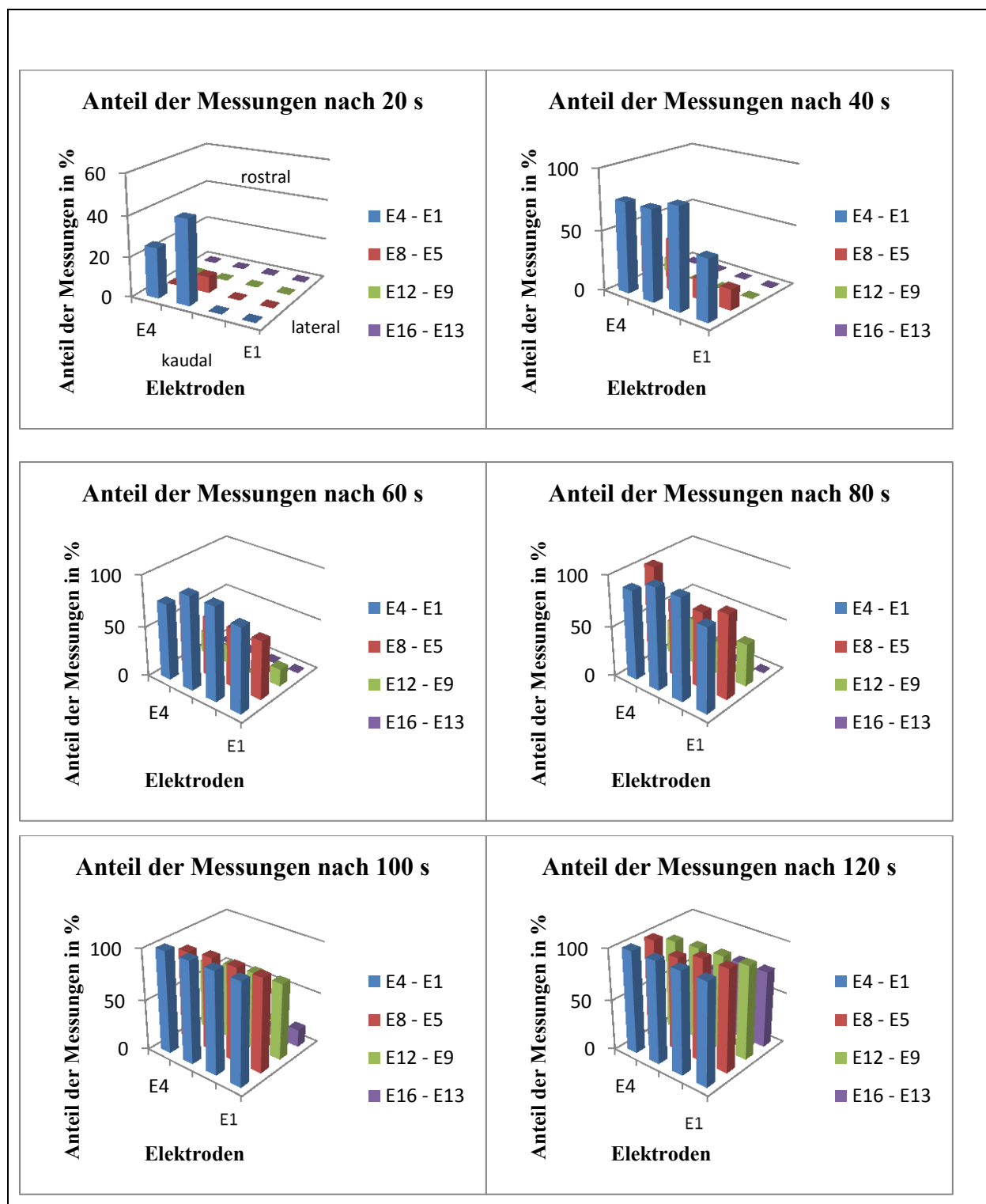


Abb. 3.7: Anteil der Messungen in Prozent, bei denen nach 20, 40, 60, 80, 100 und 120 s nach Depolarisationsbeginn jeder Messung unter der jeweiligen Elektrode der 50%-Wert erreicht wurde, nach elektrischer Reizung.

Wie in Abb. 3.6. und Abb. 3.7. verdeutlicht wird, konnte sowohl nach Stimulation mit KCl als auch nach elektrischer Reizung eine Propagation in kaudo-rostrale Verlaufsrichtung nachgewiesen werden. Auffallend war, dass nach KCl-Reizung in zeitlichen Abständen von 10 s bereits eine deutliche Propagation in rostrale Richtung zu verzeichnen war. An den Elektroden der kaudalen Reihe konnte 40 s nach Depolarisationsbeginn in bis zu 67% der Messungen (unter E1) der 50%-Wert gemessen werden. Bereits nach 70 s zeigte sich der 50%-Wert in bis zu 88% der Fälle unter den rostralen Elektroden E9 – E12. Die Propagationsmuster der einzelnen Messungen zeigten intra- und interindividuell in ihrem Verlauf von kaudal nach rostral einmal eine nach lateral und ein anderes Mal eine nach medial ausgerichtete Bewegung. In der überwiegenden Zahl der Fälle wurde jedoch eine Propagation über die lateralen Anteile zu den mittleren rostralen Elektroden und schließlich über die medialen Anteile zur rostralen Reihe beobachtet.

Nach elektrischer Reizung fand sich eine mittlere Latenz von 22 ± 8 s zwischen Depolarisationsbeginn und Auftreten der frühzeitigsten 50%-Werte. 20 s nach Depolarisationsbeginn zeigten sich die frühzeitigsten 50%-Werte unter den kaudal medialen Elektroden E3 und E4. Die Wellenfront zeigte hier von kaudal nach rostral wechselnd einen Verlauf über die lateralen und medialen Elektroden. Erst 40 s nach Depolarisationsbeginn wurden die 50%-Werte unter den Elektroden E7 und E8 (in bis zu 43% der Fälle) erreicht, so dass hier zeitliche Abstände von 20 s gewählt wurden. Während nach 100 s in der KCl-Gruppe nahezu 100% aller Elektroden der mittleren (E9 – E12) und rostralen Reihe (E13 – E16) den 50%-Wert erreichten, war dieser nach elektrischer Reizung in der rostralen Reihe maximal in 17% (E13) nachweisbar. In den einzelnen Messungen (Gesamtzahl n=12) war v.a. zwischen den Elektroden der mittleren rostralen und rostralen Reihe eine zeitliche Verzögerung bis maximal 88 s auffällig, so dass die Depolarisationswelle hier langsamer voranzuschreiten scheint. Die mittleren Latenzen zwischen den 50%-Werten der am weitesten kaudal und am weitesten rostral gelegenen Elektroden einer Reihe (E1 → E13, E2 → E14 usw.) betrugen nach KCl-Reizung 34 ± 27 s bzw. 81 ± 27 s nach elektrischer Reizung und werden in Tab. 3.2. zusammengefasst. Die Latenz wurde genutzt, um die Ausbreitungsgeschwindigkeit in einem zweiten Schritt zu berechnen.

Tab. 3.2: Latenz in Sekunden zwischen dem Erreichen der 50%-Werte der am weitesten kaudal und rostral gelegenen Elektroden einer Reihe; Fettdruck: max. Latenz für KCl-Stimulation und elektr. Reizung, kein Wert → Es wurde nur an der rostralen oder der kaudalen Elektrode eine SD beobachtet, so dass keine zeitliche Differenz gebildet werden konnte.

Reizart	Tier	Messung	Latenz (s) E1 → E13	Latenz (s) E2 → E14	Latenz (s) E3 → E15	Latenz (s) E4 → E16
KCl-Reizung	1	1	-	-	-	-
		2	23	-	-	-
		3	24	3	-	-
	2	1	71	35	19	-
		2	66	30	23	-
		3	67	82	84	-
	3	1	11	8	8	-
		2	22	10	9	-
		3	14	14	4	5
	4	1	-	38	45	10
		2	-	61	33	17
		3	-	81	73	28
		4	-	78	46	25
tetan. elektr. Reizung	5	1	59	71	79	-
		2	53	71	84	-
		3	75	77	106	-
		4	69	77	102	105
		5	66	74	99	103
		6	62	75	104	100
		7	87	84	87	-
	6	1	78	83	59	11
		2	79	87	60	36
		3	66	73	62	30
		4	69	83	122	121
		5	85	86	143	160

Wie Tab. 3.2. zu entnehmen ist, betrug die maximale Latenz, d.h. das maximale Zeitintervall zwischen der Erfassung einer SD an einer kaudal und einer rostral gelegenen Elektrode, 84 s (Messung 3 Tier 2, E3 → E15) nach KCl-Reizung und 160 s nach elektrischer Reizung (Messung 5 Tier 2, E4 → E16). Dies unterstreicht, dass die Ausbreitungsgeschwindigkeit nach KCl- und elektrischer Reizung erheblich variieren kann.

Auffällig war, dass in 5 von 13 Messungen nach KCl-Applikation unter den kaudal gelegenen Elektroden (E1 – E8) eine Ausbreitung von kaudal-lateral nach rostral-medial beobachtet wurde. Unter den rostralen Elektroden (E9 – E16) waren wiederum Verläufe mit wechselnden Beziehungen zwischen den einzelnen Elektroden erkennbar. Nach elektrischer Reizung zeigte sich in sieben Messungen eine Ausbreitung von kaudal-medial nach rostral-lateral, in zwei Messungen von kaudal-lateral nach rostral-medial unter den Elektroden E1 – E8, wenn der Depolarisationsbeginn und die frühzeitigsten 50%-Werte kaudal-medial unter E3 und E4 bzw. kaudal lateral unter E1 detektiert wurden. Damit scheint die SD-Wellenfront im Verlauf von

kaudal nach rostral auch eine latero-mediale oder medio-laterale Ausrichtung zu haben. In der vorliegenden Untersuchung konnten keine Indikatoren ermittelt werden, die frühzeitig auf das jeweilige Ausbreitungsmuster hinwiesen.

Zusammenfassend konnte gezeigt werden, dass 1. die zeitliche und räumliche Propagation von kaudal nach rostral ungleichförmig ist, d.h. wechselnd eine nach lateral bzw. medial ausgerichtete Bewegung beobachtet werden kann und 2. die Ausbreitungsgeschwindigkeit, ermittelt an der mittleren Latenz der 50%-Werte, nach KCl-Reizung größer ist.

3.3.1.3. Maximale Depolarisationsamplituden

Nach Stimulation mit KCl wurden mittlere maximale Depolarisationsamplituden von $-1,45 \pm 0,9$ mV unter den Elektroden gemessen; die Werte lagen im Einzelnen zwischen $-0,18$ mV und $-5,56$ mV. Die höchsten Amplituden zeigten sich kaudal lateral unter E3 (maximal $-5,56$ mV) bzw. E4 (maximal $-4,41$ mV) bei Tier 2 bzw. Tier 4. Wie Abb. 3.7. zu entnehmen ist, fanden sich interindividuell sowohl bezüglich der maximal erreichten Amplitude als auch des Ortes deren Erfassung große Unterschiede, so dass von einer summarischen Darstellung aller Tiere (Mittelwert) Abstand genommen wurde. V.a. bei Tier 1 wurde unter einigen Elektroden keine Depolarisation erfasst, so dass dieses nicht in die weitere Auswertung einbezogen werden konnte.

In einigen Messungen war eine tendenzielle Abnahme der Amplitudenwerte von kaudal nach rostral bzw. von lateral nach medial zu erkennen. Entscheidendes Kriterium war, dass zwischen mindestens drei Elektroden in mindestens drei Reihen eine Tendenz sichtbar war und die Amplitudenwerte zwischen der am weitesten kaudal bzw. rostral sowie lateral bzw. medial gelegenen Elektrode um mindestens 30% zu- oder abnahm. Fünf von 13 SD-Ereignissen zeigten nach diesen Kriterien eine Amplitudenabnahme in kaudal-rostraler Verlaufsrichtung; in vier Messungen war eine Amplitudenabnahme von lateral nach medial zu verzeichnen. Bei den übrigen Ereignissen konnte keine tendenzielle Zu- oder Abnahme der Amplitudenwerte beobachtet werden. Abb. 3.8. zeigt die mittleren Depolarisationsamplituden nach KCl-Reizung.

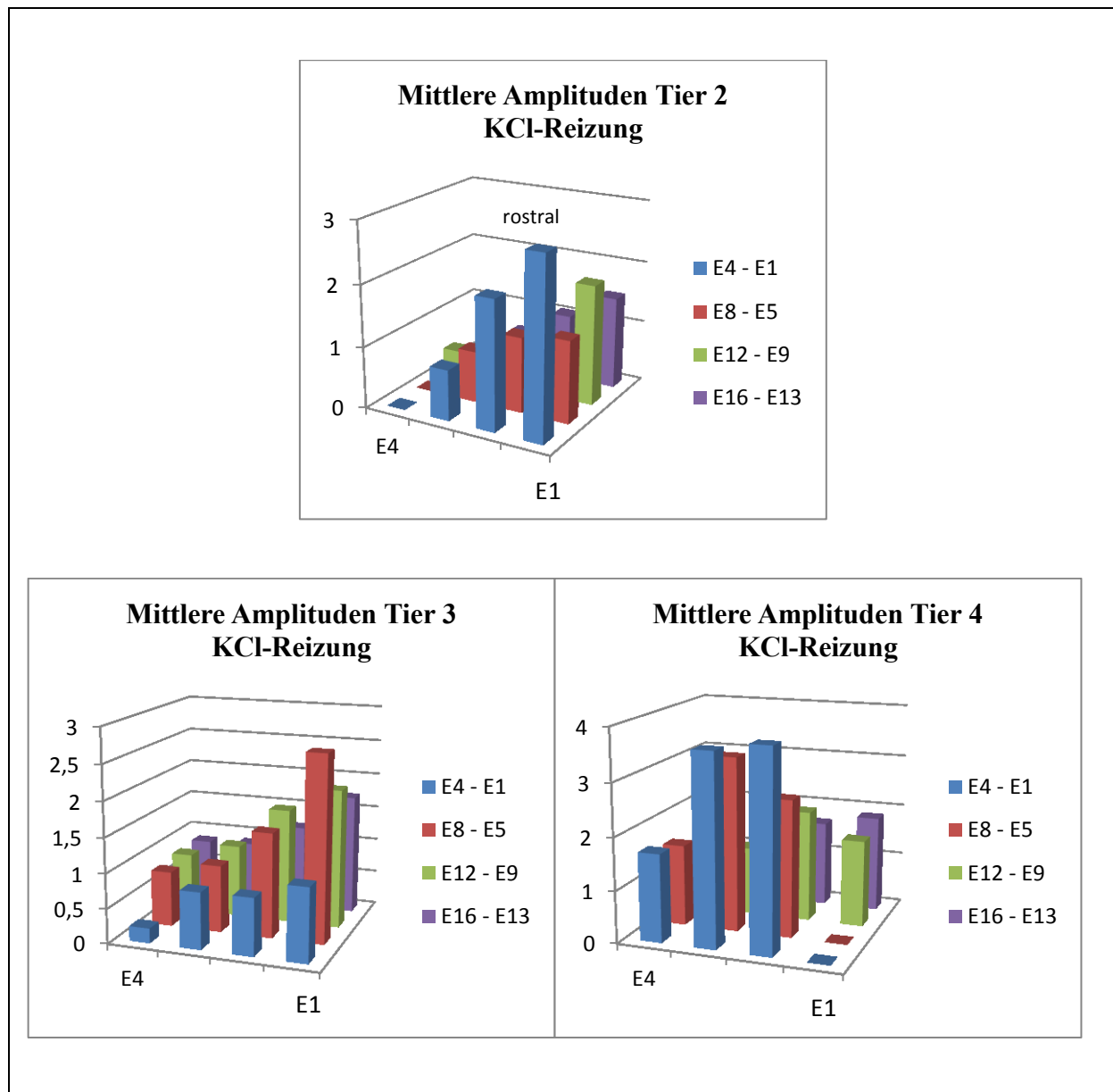


Abb. 3.8.: Mittlere Depolarisationsamplituden [mV] nach KCl-Reizung für Tier 2 – Tier 4.

Nach elektrischer Reizung wurden Amplitudenwerte von -0,8 mV bis -6,51 mV gemessen. Die höchsten Werte wurden vorwiegend kaudal lateral und rostral lateral unter E1, E2, E5, E6, E9 sowie E13 und E14 beobachtet. Der mittlere Amplitudenwert betrug $-3,32 \pm 1,2$ mV. In zwei Messungen konnte eine Abnahme der Depolarisationsamplitude von kaudal nach rostral beschrieben werden. In fünf Messungen zeigte sich hingegen sogar eine tendenzielle Zunahme der Werte im Verlauf der Propagationswelle. In 11 von 12 SD-Ereignissen wurde interessanterweise eine Amplitudenabnahme von lateral nach medial registriert, was auch in Abb. 3.9. bei Tier 5 und 6 verdeutlicht wird.

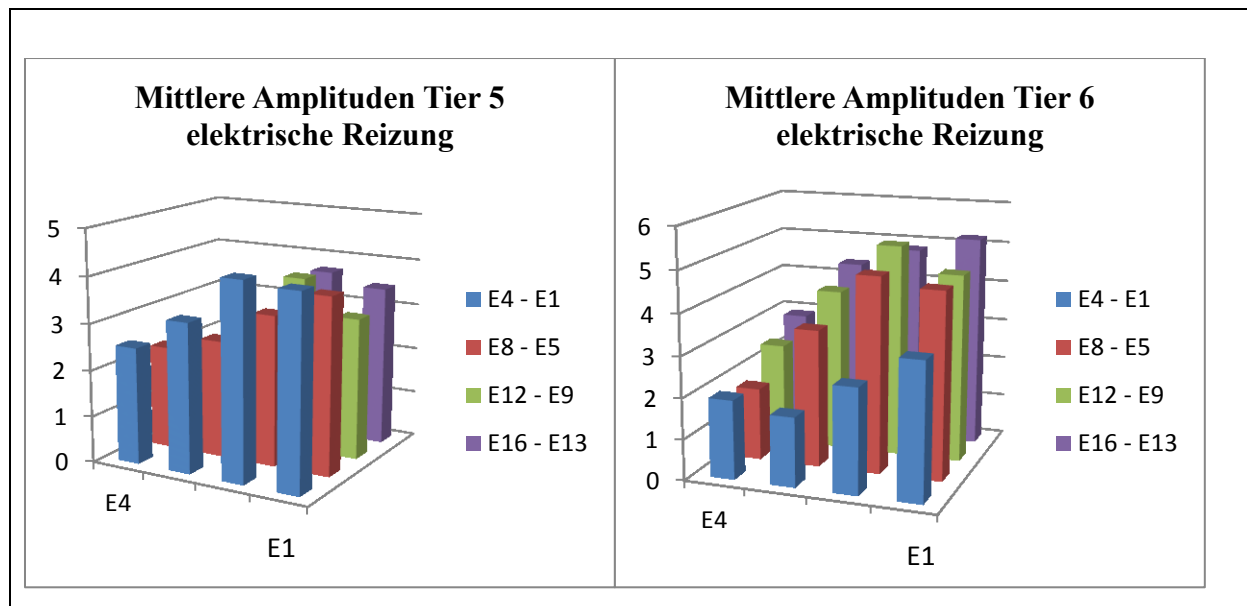


Abb. 3.9: Mittlere Depolarisationsamplituden [mV] nach elektrischer Reizung für Tier 5 und Tier 6.

3.3.1.4. MEG-Signal nach kaudaler KCl- und elektrischer Reizung

Nach kaudaler kortikaler Stimulation mit KCl konnten im 16-Kanal-MEG bei 10 von 13 SD-Ereignissen korrelierende Magnetfeldveränderungen erfasst werden. Abb. 3.10. zeigt typische SD-assoziierte Magnetfeldveränderungen, wie sie in den vorliegenden Untersuchungen erfasst wurden.

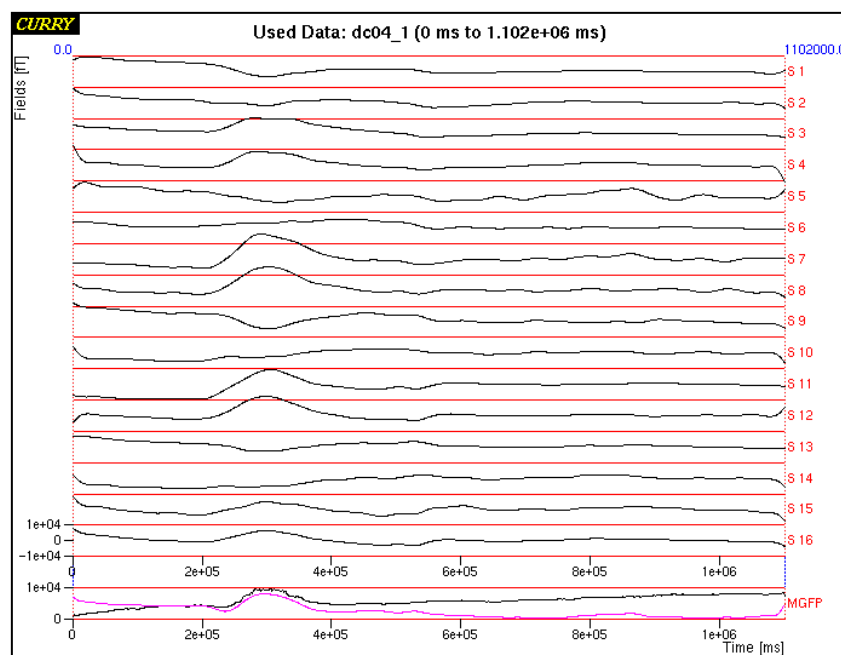


Abb. 3.10: Typische Spreading Depression assoziierte Magnetfeldveränderungen im 16-Kanal-MEG (Tier 4, Messung 4, KCl-Reizung).

Dabei wurden bei den vier Tieren MGFP-Verlaufsmuster mit einem (n=6) und zwei Signalpeaks (n=4) beobachtet. Tier 1 zeigte innerhalb der 3 Messungen im 16-Kanal-MEG keine signifikante Amplitudenänderung, so dass ein MEG-Signalbereich (s. Kapitel 2.7.4.) nach den hier vorgegebenen Kriterien nicht definiert werden konnte. Verlaufsmuster mit einem Peak zeigten 354 ± 95 s nach Reizbeginn das Maximum der MGFP; Muster mit zwei Peaks erreichten das erste bzw. zweite Maximum nach 347 ± 188 bzw. 546 ± 253 s. Tab. 3.3. und Tab. 3.4. fassen die zeitlichen Verläufe der MGFP-Veränderungen mit den Zeitpunkten des Signalbeginns und Signalendes (s. Kapitel 2.7.4.) sowie dem Zeitpunkt der Signalpeaks für die einzelnen Messungen zusammen.

Tab. 3.3: Zeitlicher Verlauf der MGFP-Veränderungen in der Gruppe mit einem Signalpeak

	Tier	Messung	Signalbeginn (s)	Signalende (s)	Dauer MEG-Signalbereich (s)	Signalpeak (s)
	2	1	205	502	297	271
	3	1	261	608	347	374
		2	265	593	328	375
	4	1	297	684	387	525
		2	160	361	201	280
		4	226	426	200	300
MW \pm SD					293 ± 78	354 ± 95

Tab. 3.4: Zeitliche Charakterisierung der Magnetfeldveränderungen mittels MGFP bei Auftreten von zwei Signalpeaks

	Tier	Messung	Signalbeginn (s)	Signalende (s)	Dauer MEG-Signalbereich (s)	1. und 2. Signalpeak (s)
	2	2	513	1187	674	627 918
		3	198	540	342	250 420
	3	3	144	527	383	279 366
	4	3	155	612	457	233 478
MW \pm SD					464 ± 148	

Nach kaudaler elektrischer Reizung konnte in den Messungen kein signifikanter MGFP-Anstieg beobachtet werden. Hintergrund dürfte sein, dass nur das Austreten der Magnetfeldlinie durch das Antennen-Array erfasst wurde. Immerhin 9 der 12 Ereignisse zeigten in mindestens drei Kanälen Magnetfeldstärken von mindestens 500 fT und positiven

Amplitudenveränderungen (s. Kapitel 2.7.4.), wie sie in anderen Messungen zu beobachten waren. So konnte für jeweils drei Kanäle der MEG-Signalbereich definiert werden. Die Dauer des so ermittelten MEG-Signalbereiches, im Mittel 304 ± 86 s, war mit dem der KCl-Messungen bei Verläufen mit einem Signalpeak vergleichbar. Tab. 3.5. zeigt Beginn und Ende sowie die Dauer der Magnetfeldveränderungen für die entsprechenden Messungen.

Tab. 3.5: Zeitliche Charakterisierung der Magnetfeldveränderung bei Ermittlung des MEG-Signalbereiches anhand von 3 Antennen bzw. Kanälen mit signifikanten Signalveränderungen

	Tier	Messung	Antenne	Signalbeginn (s)	Signalende (s)	Dauer MEG-Signalbereich (s)
	1	1	2	65	437	372
			6	65	416	351
			10	54	380	326
MW \pm SD						350 ± 23
		2	6	93	376	283
			9	97	415	318
			10	91	417	326
MW \pm SD						309 ± 23
		3	2	57	336	279
			3	67	302	235
			6	57	329	272
MW \pm SD						262 ± 24
		4	1	76	348	272
			2	46	335	289
			4	79	445	366
MW \pm SD						309 ± 50
		5	2	80	388	308
			3	85	439	354
			9	111	398	287
MW \pm SD						316 ± 34
		6	3	83	302	219
			8	79	241	162
			9	80	287	207
MW \pm SD						196 ± 30
		7	1	81	242	161
			11	82	257	175
			12	82	259	177
MW \pm SD						171 ± 9
	2	1	10	391	798	407
			13	416	778	362
			14	403	802	399
MW \pm SD						389 ± 24
		2	1	94	512	418
			3	95	528	433
			7	57	519	462
MW \pm SD						438 ± 22

Abb. 3.11. zeigt ein Beispiel für typische Magnetfeldänderungen anhand der Isomagnetfeldlinien mit Markierung des MEG-Signalbereiches sowie des Signalpeaks bei Tier 4 nach KCl-Reizung.

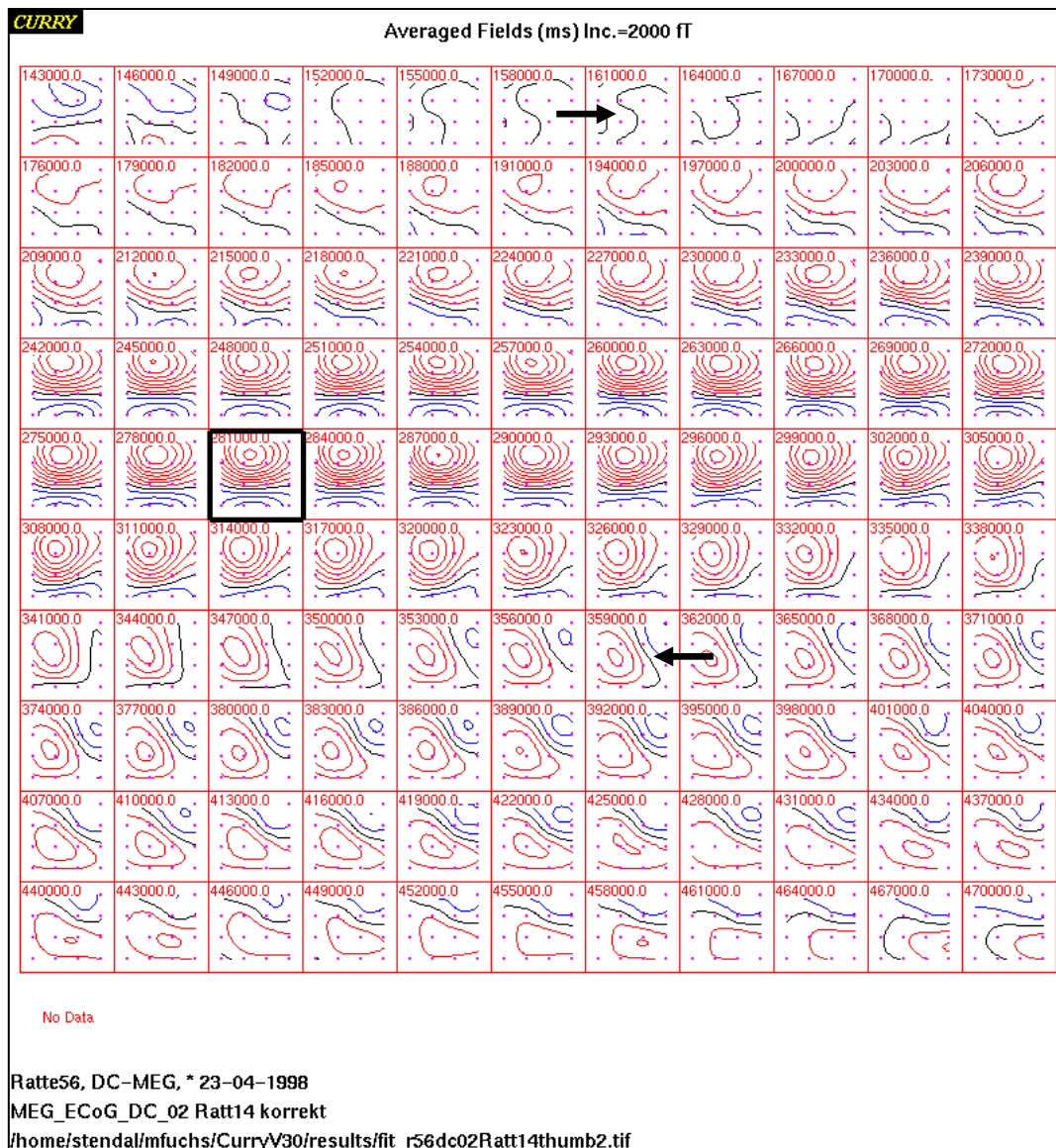


Abb. 3.11: Darstellung der Magnetfeldveränderungen nach kaudaler KCl-Reizung (Tier 4, Messung 2) anhand der Isomagnetfeldlinien (rot: austretende Linien, blau: eintretende Linien, schwarze Pfeile: Beginn und Ende des MEG-Signalbereiches, schwarz markiertes Feld: Signalpeak bei 280 s).

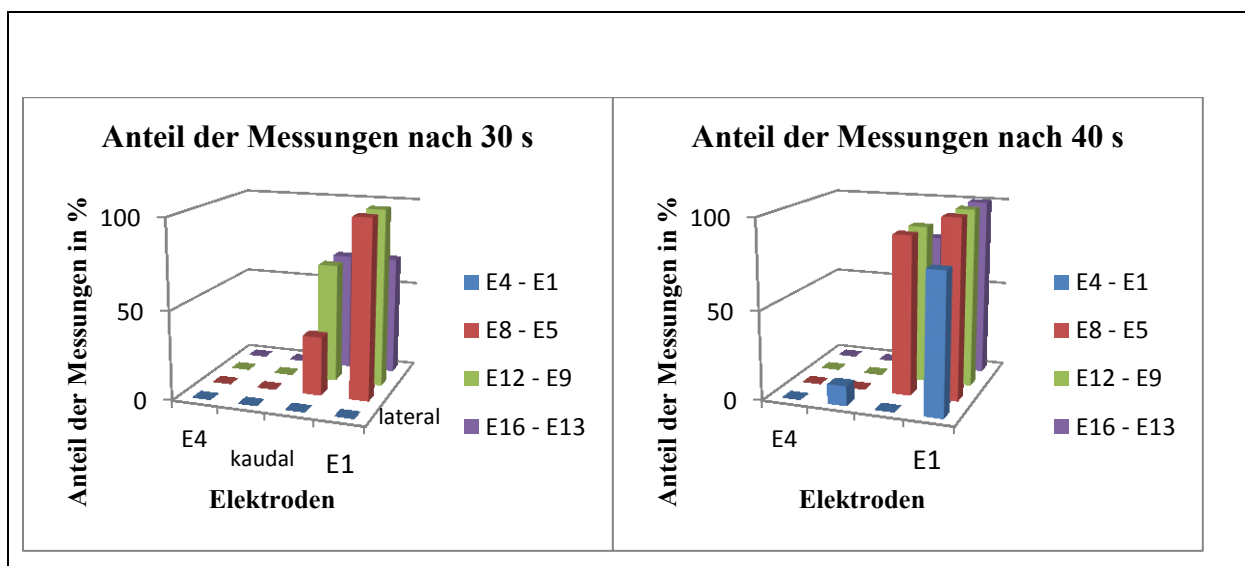
3.3.2. Spreading Depolarisations nach lateraler elektrischer Reizung

3.3.2.1. Spreading Depolarisations im Elektrokortikogramm

Bei zwei Versuchstieren wurden SDs lateral des Elektrodenarrays mittels elektrischer tetanischer Stimulation ausgelöst. In dieser Versuchsanordnung lagen die Elektroden E5 und E9 dem Stimulationsort am nächsten. Unter den lateral liegenden Elektroden E1, E5 und E9 des Arrays wurden im Mittel 30 ± 18 s nach Reizbeginn die frühzeitigsten Depolarisationsbeginne erfasst.

3.3.2.2. Zeitliche und räumliche Ausbreitung der Spreading Depolarisations im Elektrokortikogramm

Wird das zeitliche Verteilungsmuster des Erreichens des 50%-Wertes an den verschiedenen Elektroden zugrunde gelegt, ergibt sich eine Ausbreitung von lateral nach medial. Entsprechend dem Depolarisationsbeginn konnten unter den lateralen Elektroden E5 und E9 zuerst die 50%-Werte gemessen werden. Anhand dieser konnte in allen Messungen ein räumliches Ausbreitungsmuster in lateral-mediale Verlaufsrichtung beschrieben werden. Da die lateral gelegenen Elektroden nahezu gleichzeitig die Depolarisation erfassten, dürfte die Wellenfront bereits zu diesem Zeitpunkt eine relativ geradlinige Form aufgewiesen haben. Dies setzte sich über die folgenden Elektrodenreihen fort. Auffällig war, dass stets alle Elektroden einer Reihe im Verlauf von lateral nach medial ihre 50%-Werte erreichten, bevor dieser Wert in der nächstfolgenden Reihe erreicht wurde. Somit konnten nach lateraler Reizung homogene Propagationsmuster der SD beobachtet werden. Abb. 3.12. zeigt den Anteil der Messungen in Prozent, in denen 30 s, 40 s, 50 s und 60 s nach erstmaliger Erfassung einer Depolarisation der 50%-Wert unter den Elektroden E1 – E16 erreicht wurde. Somit konnte eine zeitliche und topographische Propagation in lateral-mediale Richtung beschrieben werden.



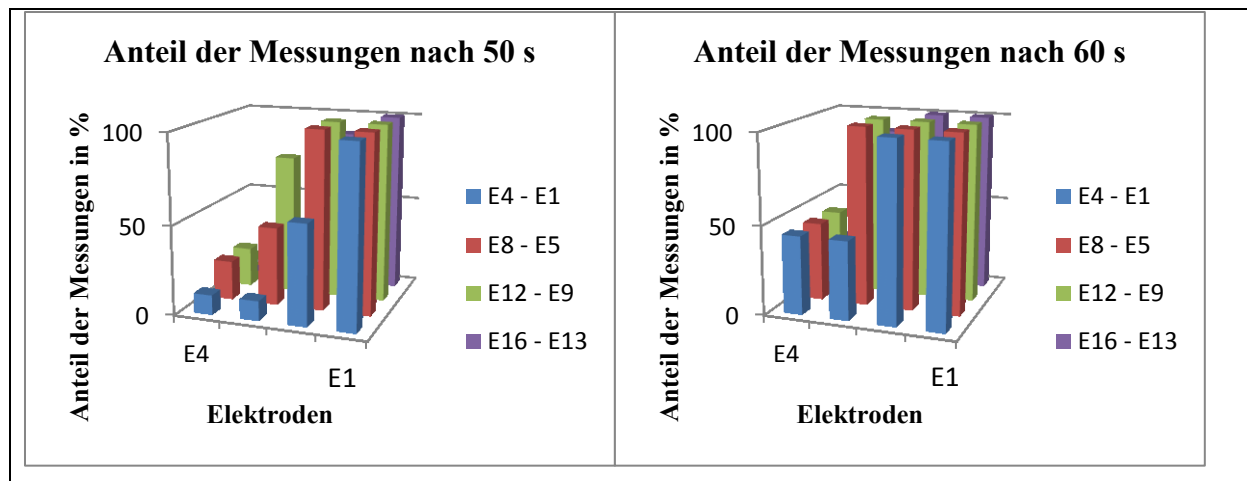


Abb. 3.12: Anteil der Messungen, bei denen 30, 40, 50 und 60 s nach Depolarisationsbeginn der 50%-Wert erreicht wurde (n=9).

Wie den Graphiken zu entnehmen ist, wurde der 50%-Wert in allen Messungen 30 s nach Depolarisationsbeginn unter E5 und E9 erreicht. Der weitere Verlauf zeigte eine Propagation nach medial über die mittleren Elektroden E6 und E10 sowie nach 60 s über E7 und E11. 60 s nach Depolarisationsbeginn war unter nahezu allen Elektroden der ersten, zweiten und dritten Reihe (von lateral nach medial) der 50%-Wert erreicht, während dieser in bis zu 44% der Messungen auch unter den medial gelegenen Elektroden E4, E8, E12 und E16 erreicht wurde. Tab. 3.6. zeigt die Latenz zwischen dem Auftreten der 50%-Werte der jeweils am weitesten lateral und am weitesten medial gelegenen Elektrode. Auffällig war, dass bei einer mittleren Latenz von 56 ± 10 s für Tier 7 bzw. 36 ± 6 s für Tier 8 eine geringe Streuung der intraindividuellen Werte zu verzeichnen war.

Tab.3.6: Latenz in Sekunden zwischen dem Erreichen der 50%-Werte der am weitesten lateral und medial gelegenen Elektroden einer Reihe

Tier	Messung	Latenz (s) E1 → E4	Latenz (s) E5 → E8	Latenz (s) E9 → E12	Latenz (s) E13 → E16
7	1	37	46	48	44
	2	56	66	58	48
	3	75	65	62	53
	4	65	65	62	53
8	1	36	40	34	31
	2	26	36	33	35
	3	26	35	30	31
	4	34	41	42	44
	5	34	42	42	46

3.3.2.3. Maximale Depolarisationsamplituden

Nach lateraler elektrischer Reizung konnten Depolarisationsamplituden von -4,22 mV bis -14,88 mV bei Tier 7 und von -3,04 mV bis -10,38 mV bei Tier 8 gemessen werden. Die höchsten Amplituden fanden sich unter den lateralen Elektroden E1 und E13. Der Mittelwert des Amplitudenmaximums über allen Elektroden betrug $-7,59 \pm 1,65$ mV für Tier 7 und $-5,99 \pm 1,84$ mV für Tier 8. Somit wurden im Vergleich zu kaudaler und rostraler Reizung deutlich höhere Amplitudenwerte gemessen. Abb. 3.13. veranschaulicht die räumliche Verteilung der mittleren Depolarisationsamplituden für Tier 7 und Tier 8.

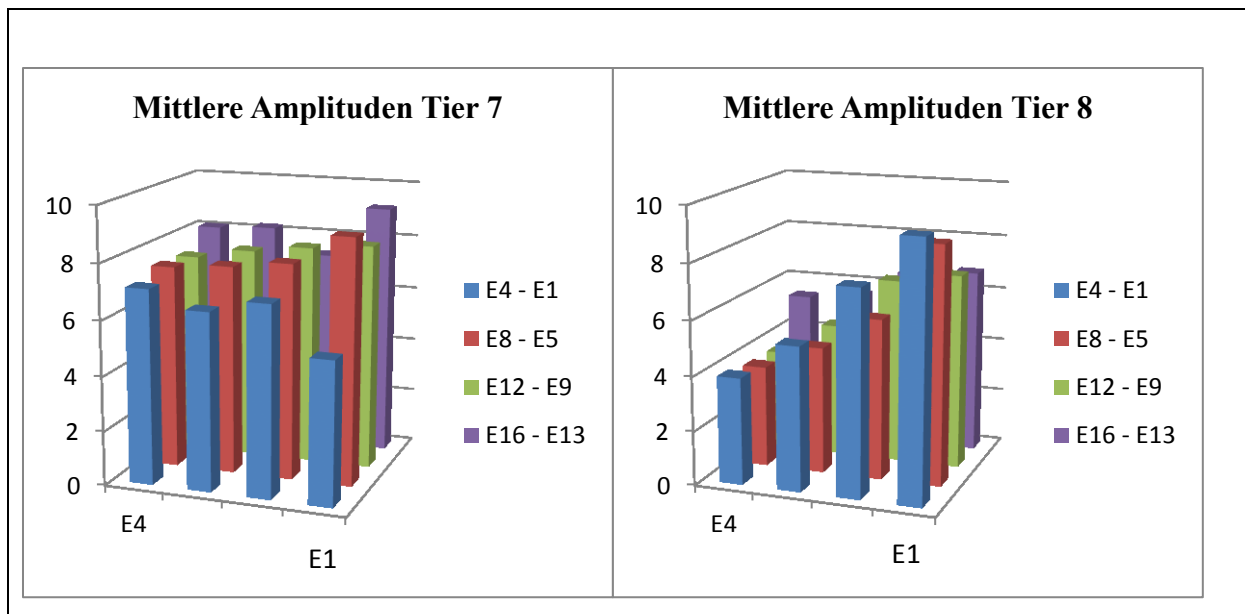


Abb. 3.13: Maximale Depolarisationsamplituden [mV] für E1 – E16 nach lateraler elektrischer Reizung gemittelt über alle Ereignisse bei einem Tier.

Im Verlauf von lateral nach medial zeigte sich bei den fünf SD-Ereignissen von Tier 8 eine tendenzielle Abnahme der Depolarisationsamplitude von lateral nach medial um mindestens 30%, werden die Werte der am weitesten lateral und am weitesten medial gelegenen Elektroden verglichen. Dies konnte in den Messungen bei Tier 7 nicht beobachtet werden; die Amplituden nahmen entweder nur geringfügig ab oder zeigten sogar einen tendenziellen Anstieg. Eine Zu- oder Abnahme der Maximalamplitude in kaudaler oder rostraler Richtung ließ sich bei beiden Tieren nicht nachweisen.

3.3.2.4. MEG-Signal nach lateraler elektrischer Reizung

Nach lateraler elektrischer Reizung wurden für neun SD-Ereignisse, vergleichbar mit den Magnetfeldveränderungen nach kaudaler Reizung, MGFP-Verlaufsmuster mit einem (n=1) und am häufigsten mit zwei (n=7) Signalpeaks beobachtet. Eine Messung zeigte keinen signifikanten MGFP-Anstieg. Die folgenden Tabellen zeigen die zeitlichen Verläufe der Magnetfeldveränderungen für Messungen mit einem und zwei Peaks sowie für die Messung ohne signifikanten MGFP-Anstieg.

Tab. 3.7: Zeitlicher Verlauf der MGFP-Veränderungen mit einem Signalpeak

Tier	Messung	Signalbeginn (s)	Signalende (s)	Dauer MEG-Signalebereich (s)	Signalpeak (s)
8	4	432	688	256	498

Tab. 3.8: Zeitlicher Verlauf der MGFP-Veränderungen mit zwei Signalpeaks

	Tier	Messung	Signalbeginn (s)	Signalende (s)	Dauer MEG-Signalebereich (s)	1. Signalpeak (s)	2. Signalpeak (s)
	7	1	106	358	252	145	266
		2	67	321	254	79	263
		3	115	431	316	134	265
		4	71	351	280	138	239
	8	2	146	330	184	207	264
		3	51	317	266	89	207
		5	84	277	193	151	197
MW ± SD					244 ± 49		

Tab. 3.9: Zeitlicher Verlauf der Magnetfeldveränderungen ohne signifikanten MGFP-Anstieg

	Tier	Messung	Antenne	Signalbeginn	Signalende	Dauer MEG-Signalebereich
	8	1	2	0	186	186
			3	9	197	188
			7	0	202	202
MW ± SD						192 ± 9

Abb. 3.14. zeigt die Verteilung der ein- und austretenden Isomagnetfeldlinien im 16-Kanal-MEG bei 476 s und somit im Zeitraum des MEG-Signalebereichs nahe des Signalpeaks bei Messung 4 von Tier 8 nach lateraler elektrischer Reizung.

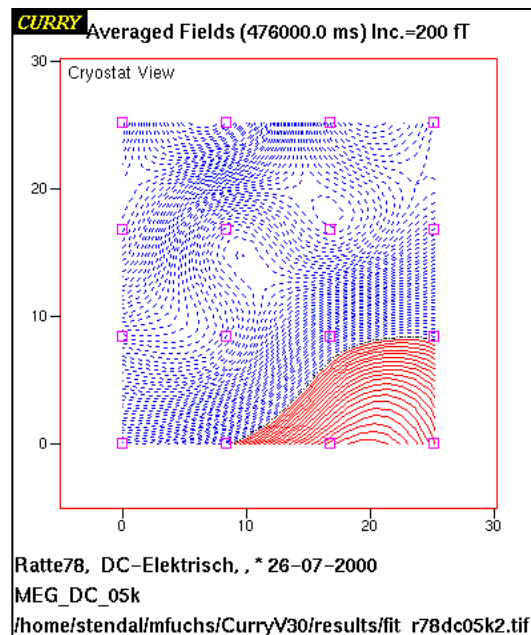


Abb. 3.14: Beispiel für Magnetfeldveränderungen anhand der Isomagnetfeldlinien nach 476 s, nach lateraler elektrischer Reizung, Tier 8, Messung 4 (rot: austretende Magnetfeldlinien, blau: eintretende Magnetfeldlinien).

3.3.3. SD nach rostraler elektrischer Reizung

3.3.3.1. Spreading Depolarisations im Elektrokortikogramm

Bei zwei Tieren wurden SDs rostral des Elektrodenarrays ausgelöst. Hier lagen die Elektroden E13-E16 dem Reizort am nächsten, wobei an diesen Elektroden zuerst Depolarisationen erfasst wurden. Ähnlich den Versuchen mit kaudaler Reizung wurde in den einzelnen Messungen nicht unter jeder Elektrode eine SD gemessen. Abb. 3.15. zeigt den Anteil der Messungen, bei denen durch die jeweilige Elektrode eine SD-Depolarisation erfasst wurde. Auffällig war, dass v.a. auch hier unter den medialen Elektroden E4, E8, E11 und E12 häufig keine SD detektiert wurde. Der frühzeitigste Depolarisationsbeginn wurde unter den Elektroden E13 und E14 gemessen und betrug im Mittel 53 ± 30 s nach Reizungsbeginn.

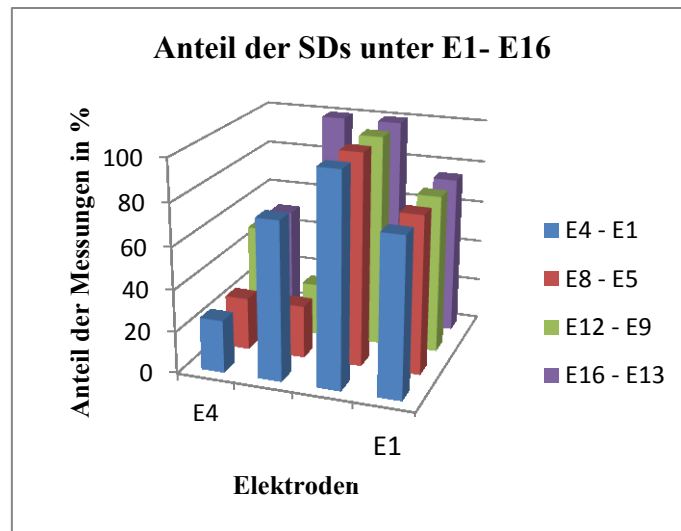


Abb. 3.15: Anteil der Messungen beider Tiere, bei denen durch die jeweilige Elektrode eine SD erfasst wurde (n=4), nach rostraler elektrischer Reizung.

3.3.3.2. SD-Ausbreitung im Elektrokortikogramm anhand des 50%-Wertes

Vergleichbar mit den Ergebnissen nach kaudaler Reizung wurden nach rostraler Reizung stark variierende Ausbreitungsmuster mit häufig wechselnden zeitlichen und räumlichen Beziehungen zwischen den einzelnen Elektroden beobachtet. Die frühzeitigsten 50%-Werte wurden unter den rostralen Elektroden E13 und E14 gemessen. Der weitere Verlauf zeigte eine Propagation in kaudale Richtung über die lateral gelegenen Elektroden. Abb. 3.16. verdeutlicht anhand des Anteils der Messungen (%), die 30, 40, 60, 80, 100 und 120 s nach Depolarisationsbeginn unter der jeweiligen Elektrode ihre 50%-Werte erreicht haben, den Verlauf der SD-Welle in rostro-kaudale Richtung.

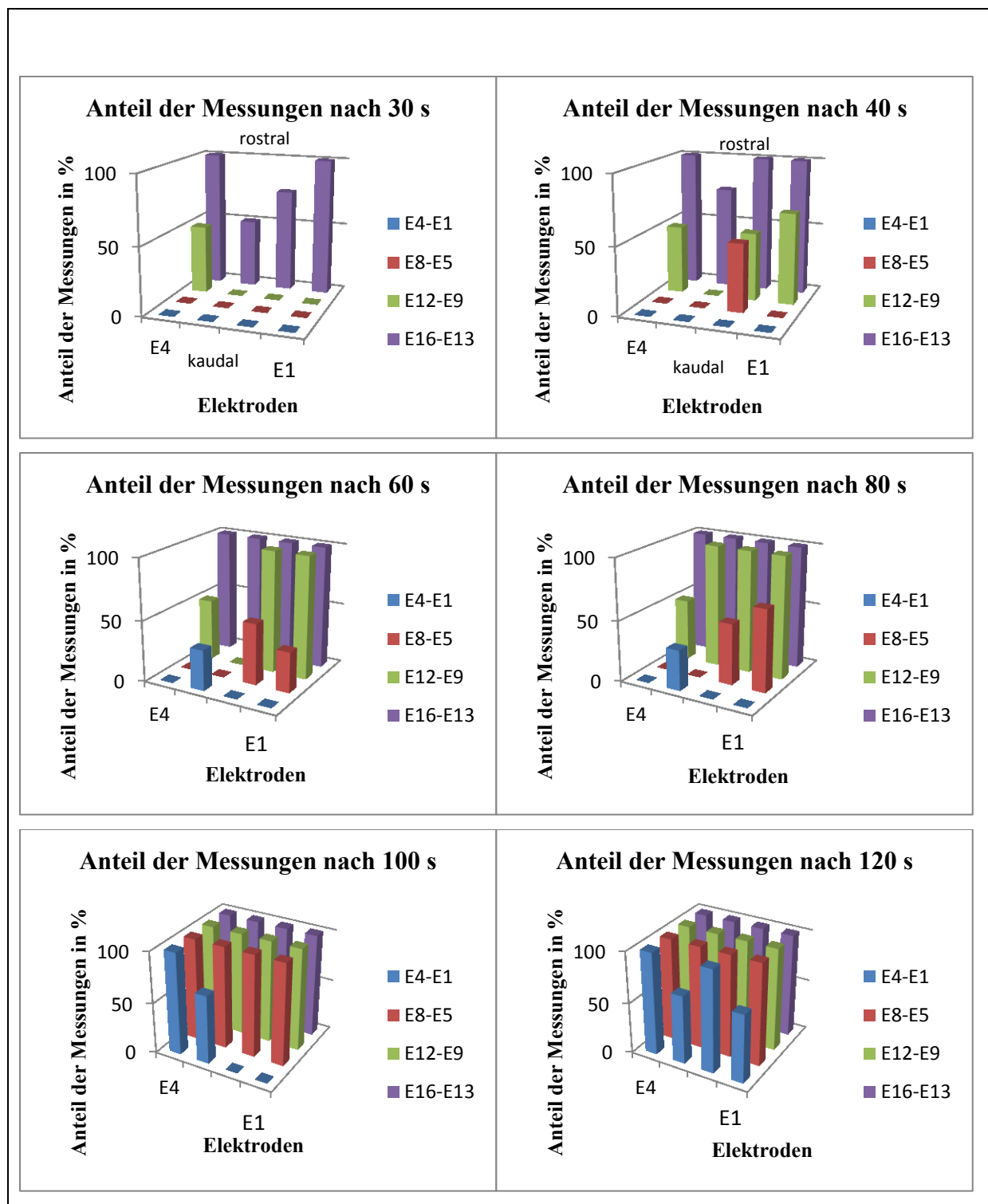


Abb. 3.16: Anteil der Messungen in Prozent, bei denen 30, 40, 60, 80, 100 und 120 s nach Depolarisationsbeginn der 50%-Wert erreicht wurde.

Tab. 3.10. zeigt die Latenz der 50%-Werte zwischen den am weitesten rostral und am weitesten kaudal gelegenen Elektroden.

Tab. 3.10: Latenz in Sekunden zwischen dem Erreichen der 50%-Werte an den am weitesten rostral und kaudal gelegenen Elektroden einer Reihe; für einige Elektrodenpaare konnte keine Latenz bestimmt werden, da entweder nur an der rostralen oder nur an der kaudalen Elektrode eine SD beobachtet werden konnte

Tier	Messung	Latenz (s) E13 → E1	Latenz (s) E14 → E2	Latenz (s) E15 → E3	Latenz (s) E16 → E4
9	1	94	94	-	-
	2	98	94	-	-
	3	84	76	67	-
10	1	-	93	42	-

3.3.3.3. Maximale Depolarisationsamplituden

Nach rostraler elektrischer Reizung wurden maximale Depolarisationsamplituden bis -4,51 mV bei Tier 9 und bis -10,41 mV bei Tier 10 gemessen. Wie Abb. 3.17. zu entnehmen ist, zeigten sich die höchsten Amplitudenwerte unter den lateral gelegenen Elektroden E1, E9 und E13 bei Tier 9. Die höchste Amplitude konnte in zwei der drei Messungen unter E1, in einer Messung unter E2 gemessen werden. Eine tendenzielle Abnahme der Werte in kaudaler Verlaufsrichtung war nicht nachweisbar. Tier 10 zeigte die höchsten Depolarisationsamplituden unter den Elektroden der mittleren Reihe E14, E11 und E7, wobei der höchste Wert unter E11 gemessen wurde. Da bei einem Tier nur ein SD-Ereignis erfasst wurde, wird in diesem Fall auf eine Aussage über eine eventuelle Zu- oder Abnahme der Amplitudenwerte verzichtet, zumal nicht unter jeder Elektrode eine SD-Depolarisation erfasst wurde.

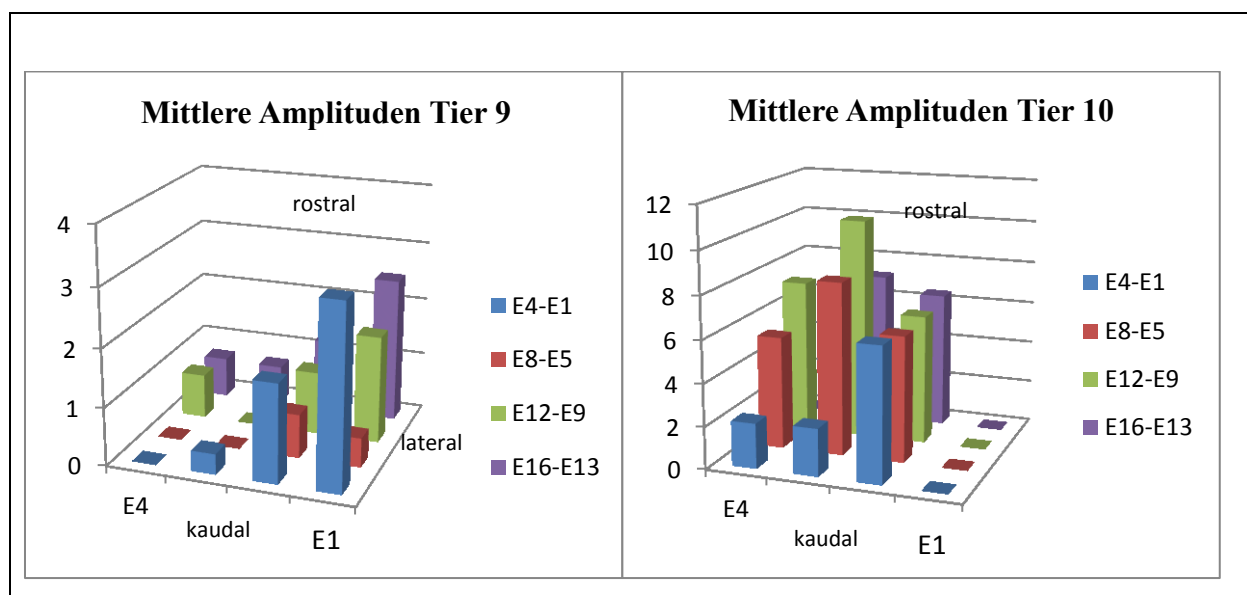


Abb. 3.17: Maximale Depolarisationsamplituden [mV] Tier 9 und Tier 10 nach rostraler elektrischer Reizung gemittelt über alle Ereignisse bei einem Tier.

3.3.3.4. MEG-Signal nach rostraler elektrischer Reizung

Nach rostraler elektrischer Reizung traten bei drei der vier SD-Ereignisse typische Magnetfeldveränderungen auf. Nach einem mittleren Zeitintervall von 130 ± 8 s wurde ein signifikanter Anstieg der MGFP beobachtet. Auch hier konnten MGFP-Signalverläufe mit einem ($n=2$) und zwei ($n=1$) Peaks beschrieben werden. Tab. 3.11. und Tab. 3.12. zeigen die entsprechenden zeitlichen Verläufe der MGFP-Veränderungen nach rostraler Reizung.

Abb. 3.18. zeigt ein Beispiel für die Verteilung der Isomagnetfeldlinien (Messung 2, Tier 9) zum Zeitpunkt des 1. Signalpeaks nach rostraler elektrischer Reizung.

Tab. 3.11: Zeitlicher Verlauf der MGFP-Veränderungen mit einem Signalpeak

Tier	Messung	Signalbeginn (s)	Signalende (s)	Dauer MEG-Signalebereich (s)	Signalpeak (s)
9	2	127	181	54	144
	3	124	267	143	185

Tab. 3.12: Zeitlicher Verlauf der MGFP-Veränderungen mit zwei Signalpeaks

Tier	Messung	Signalbeginn (s)	Signalende (s)	Dauer MEG-Signalebereich (s)	1. Signalpeak (s)	2. Signalpeak (s)
9	1	139	424	285	284	334

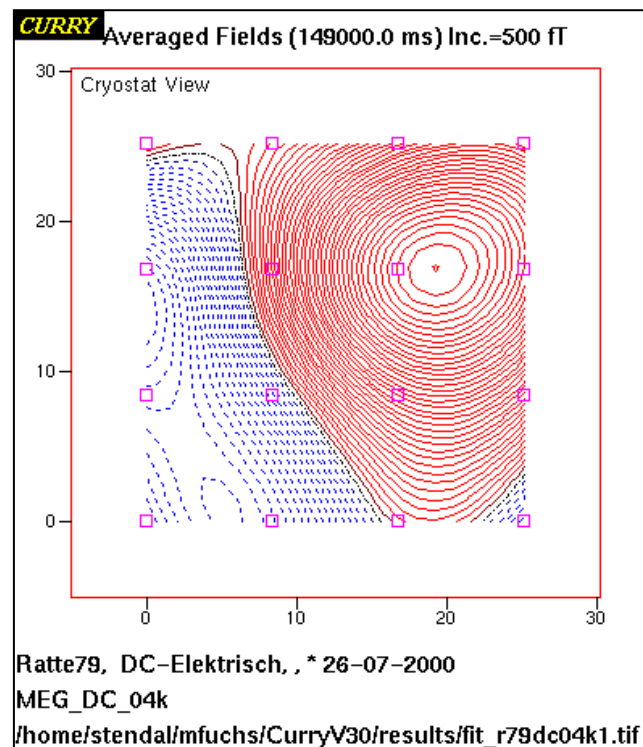


Abb. 3.18: Verteilung der Isomagnetfeldlinien zum Zeitpunkt des 1. Signalpeaks nach rostraler elektrischer Reizung, Messung 2, Tier 9.

3.4. Zeitliche Beziehungen der simultan erfassten ECoG- und MEG-Veränderungen bei Spreading Depolarisations

Im Folgenden sollen die zeitlichen Beziehungen der simultan erfassten ECoG- und MEG-Veränderungen nach kaudaler, lateraler und rostraler SD-Auslösung gegenübergestellt werden.

3.4.1. Kaudale Reizung

Nach kaudaler Reizung konnten für 10 von 13 SD-Ereignissen bei Reizung mit KCl bzw. für 9 von 12 Ereignissen bei elektrischer Stimulation simultan auftretende ECoG- und MEG-Veränderungen detektiert und deren zeitliche Dynamik analysiert werden. Tab. 3.13. fasst die ECoG- und MEG-Signalsbereiche, deren Signaldauer sowie die Zeitpunkte der MEG-Signalpeaks zusammen.

Tab. 3.13: ECoG- und MEG-Signalbereiche [s] nach Reizbeginn, Dauer der Signale, Anzahl der Peaks sowie Zeitpunkte der Peaks in s im MEG nach kaudaler KCl- und elektrischer Reizung

Tier	M	ECoG-Signalbereich (s)	Dauer (s) ECoG	MEG-Signalbereich (s)	Dauer (s) MEG	Anzahl Peaks	Zeitpunkt(e) MEG Peak (s)
1 KCl	1	-	-	-	-	-	-
	2	-	-	-	-	-	-
	3	-	-	-	-	-	-
2 KCl	1	282 – 513	231	205 – 502	297	1	271
	2	575 – 791	216	513 – 1187	674	2	627 u. 918
	3	243 – 575	332	198 – 540	342	2	250 u. 420
3 KCl	1	400 – 640	240	261 – 608	347	1	374
	2	414 – 649	235	265 – 593	328	1	375
	3	406 – 617	211	144 – 527	383	2	279 u. 366
4 KCl	1	403 – 624	221	297 – 684	387	1	525
	2	252 – 534	282	160 – 361	201	1	280
	3	211 – 452	241	155 – 612	457	2	233 u. 478
	4	277 – 522	245	226 – 426	200	1	300
5 elektr.	1	19 – 304	285	61 – 411	350	-	-
	2	15 – 264	249	94 – 403	309	-	-
	3	6 – 305	299	60 – 322	262	-	-
	4	21 – 344	323	67 – 376	309	-	-
	5	64 – 384	320	92 – 408	316	-	-
	6	60 – 383	323	81 – 277	196	-	-
	7	2 – 305	303	82 – 253	171	-	-
6 elektr.	1	313 – 605	292	403 – 793	390	-	-
	2	43 – 342	299	82 – 520	438	-	-
	3	26 – 294	268	-	-	-	-
	4	12 – 305	293	-	-	-	-
	5	93 – 431	338	-	-	-	-

Zur besseren Veranschaulichung werden in den folgenden Abbildungen die ECoG- und MEG-Signalbereiche der einzelnen Messungen nach KCl- und elektrischer Reizung schematisch dargestellt. Dabei soll ebenfalls der Zeitraum (= gemeinsamer Bereich, s. Abb. 3.19.), in dem simultan elektrische und magnetische Veränderungen erfasst wurden, verdeutlicht werden. Abb. 3.19. zeigt ein Beispiel (Messung 3, Tier 2), in dem ein gemeinsamer Bereich von 297 s gemessen wurde. Dabei betrug der Gesamtzeitraum, in welchem sowohl elektrische als auch magnetische Veränderungen erfasst wurden, 377 s.

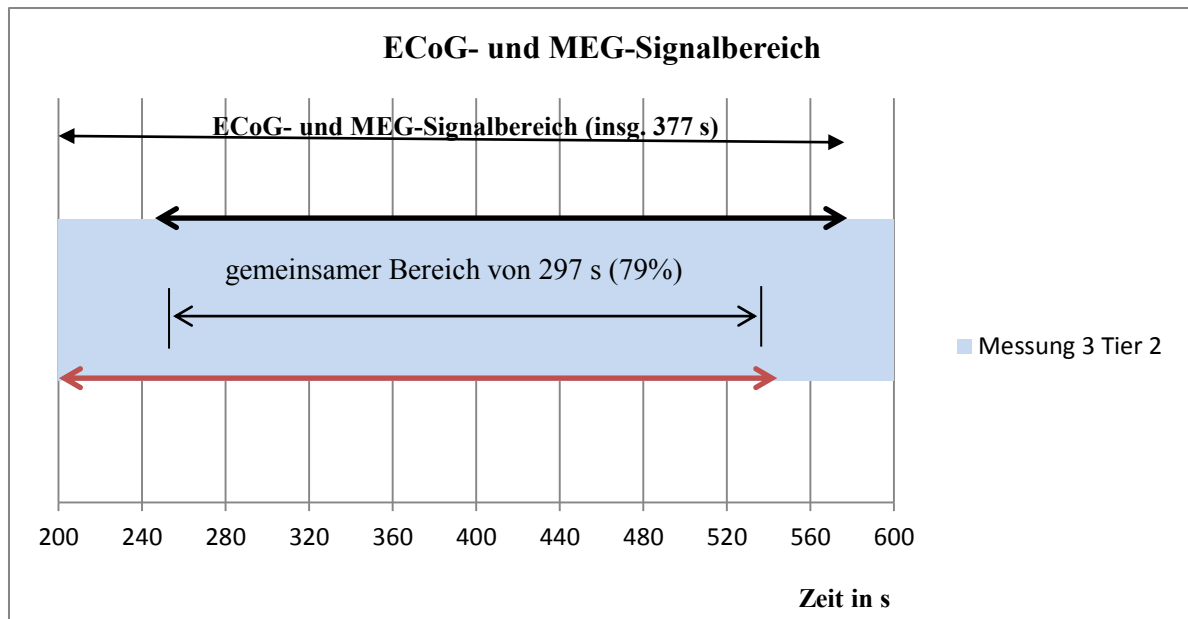


Abb. 3.19: Schematische Darstellung der simultan erfassten ECoG- und MEG-Signalveränderungen in Messung 3, Tier 2 nach KCl-Reizung (schwarz: ECoG-Signalbereich, rot: MEG-Signalbereich).

Nach KCl-Reizung wurden in allen 10 Messungen zuerst SD-assoziierte Magnetfeldveränderungen erfasst, bevor im ECoG eine signifikante Potentialänderung gemessen werden konnte. Der Beginn der ECoG-Signalbereiche lag im Mittel 104 ± 66 s nach dem Beginn des MEG-Signalbereiches. Es soll auf die große Varianz hinsichtlich des Auftretens der elektrischen Signalveränderungen hingewiesen werden. Im ECoG betrug die mittlere Signaldauer 245 ± 36 s; im MEG fand sich mit 362 ± 136 s ein längeres mittleres Zeitintervall, aber auch eine größere Varianz. Wie in Abb. 3.20. verdeutlicht wird, überschritt der ECoG-Bereich den MEG-Signalbereich in sieben Messungen. In sechs Messungen war eine zeitliche Überschneidung der ECoG- und MEG-Bereiche über 50% des gesamten Zeitintervalles, in dem sowohl ECoG- als auch MEG-Signale messbar waren, zu verzeichnen. Tier 2 zeigte in Messung 3 sogar eine Überschneidung von 79% bei einem ECoG-Signalbereich beginnend bei 243 s und endend bei 575 s nach Reizapplikation und einem MEG-Bereich beginnend bei 198 s und endend bei 540 s (s. Abb. 3.19.). Eine feste zeitliche Beziehung zwischen dem Auftreten der MEG-Signalpeaks und der ECoG-Signalbereiche konnte nicht nachgewiesen werden. Vielmehr lagen die MGFP-Peaks in vier Fällen vor und in vier Fällen innerhalb des ECoG-Bereiches. Bei zwei Ereignissen wurde der zweite Peak nach dem ECoG-Signalbereich gemessen.

Abb. 3.20. stellt für jede Messung die zeitliche Beziehung der ECoG- und MEG-Signalbereiche mit Auftreten der MEG-Signalpeaks schematisch dar und verdeutlicht deren zeitliche Dynamik.

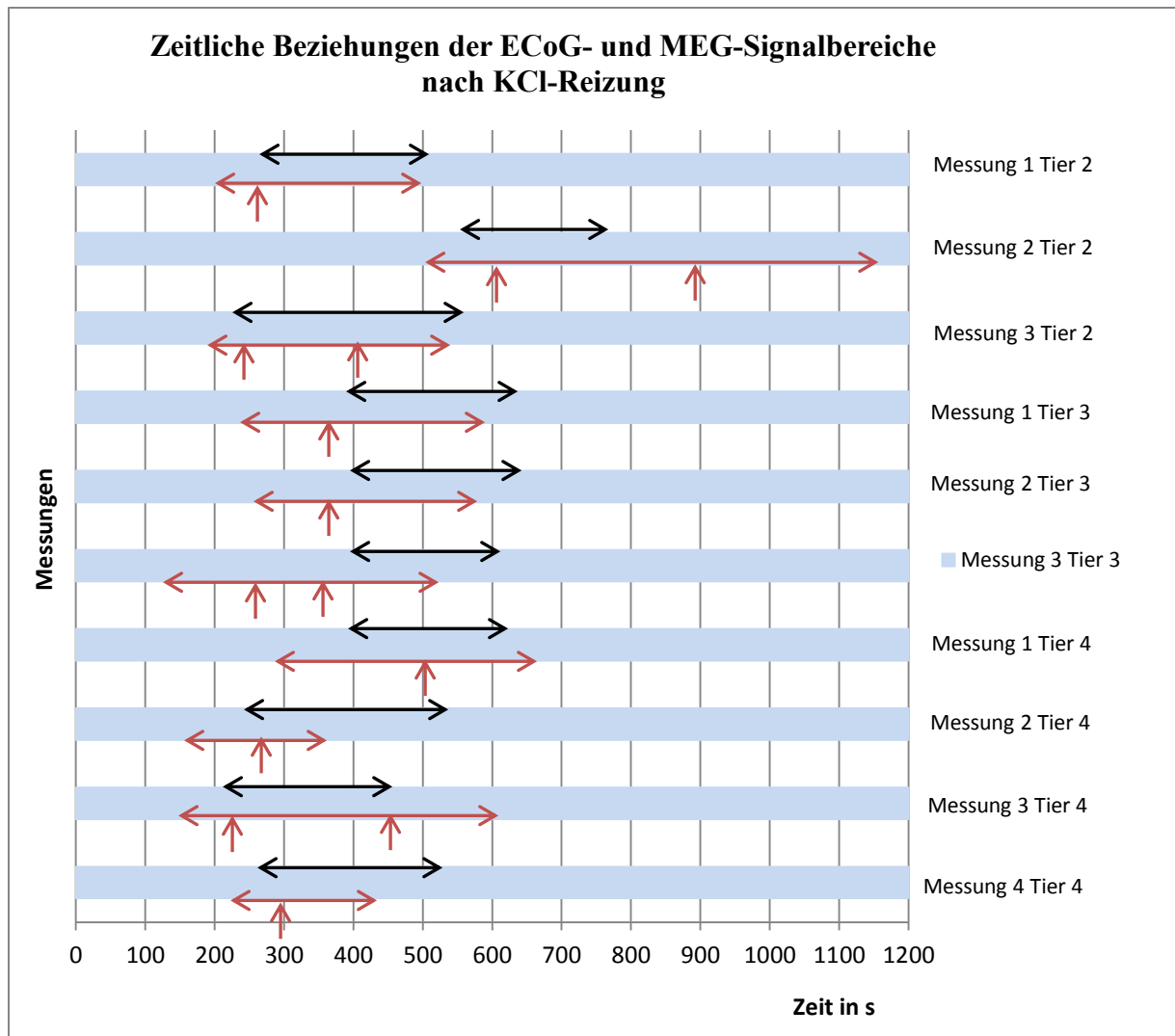


Abb. 3.20: Schematische Darstellung der zeitlichen Beziehung der ECoG- und MEG-Signalbereiche nach kaudaler KCl-Reizung (schwarzer Doppelpfeil: ECoG-Signalbereich, roter Pfeil: MEG-Signalbereich, vertikaler roter Pfeil: Zeitpunkt des MGFP-Peaks).

In Abb. 3.21. werden die simultan erfassten elektrischen und magnetischen Signalveränderungen anhand eines Beispiels gegenübergestellt. Auffällig ist, dass nach KCl-Reizung zuerst eine MEG-Veränderung gemessen werden konnte.

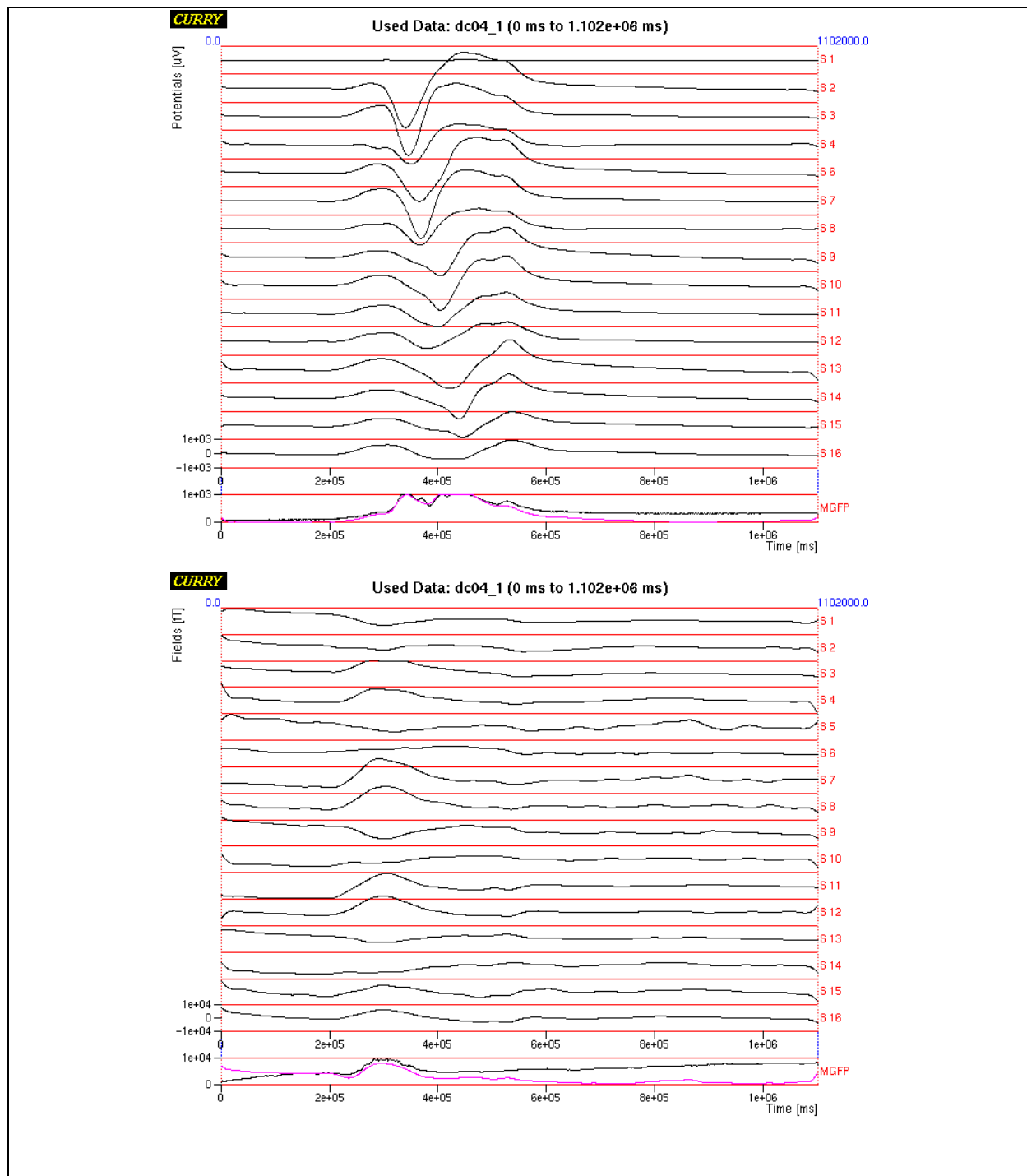


Abb. 3.21: Simultan erfasste ECoG- und MEG-Signalveränderungen mit frühzeitiger Erfassung der MEG-Veränderungen am Beispiel Tier 4 Messung 4 nach KCl-Reizung.

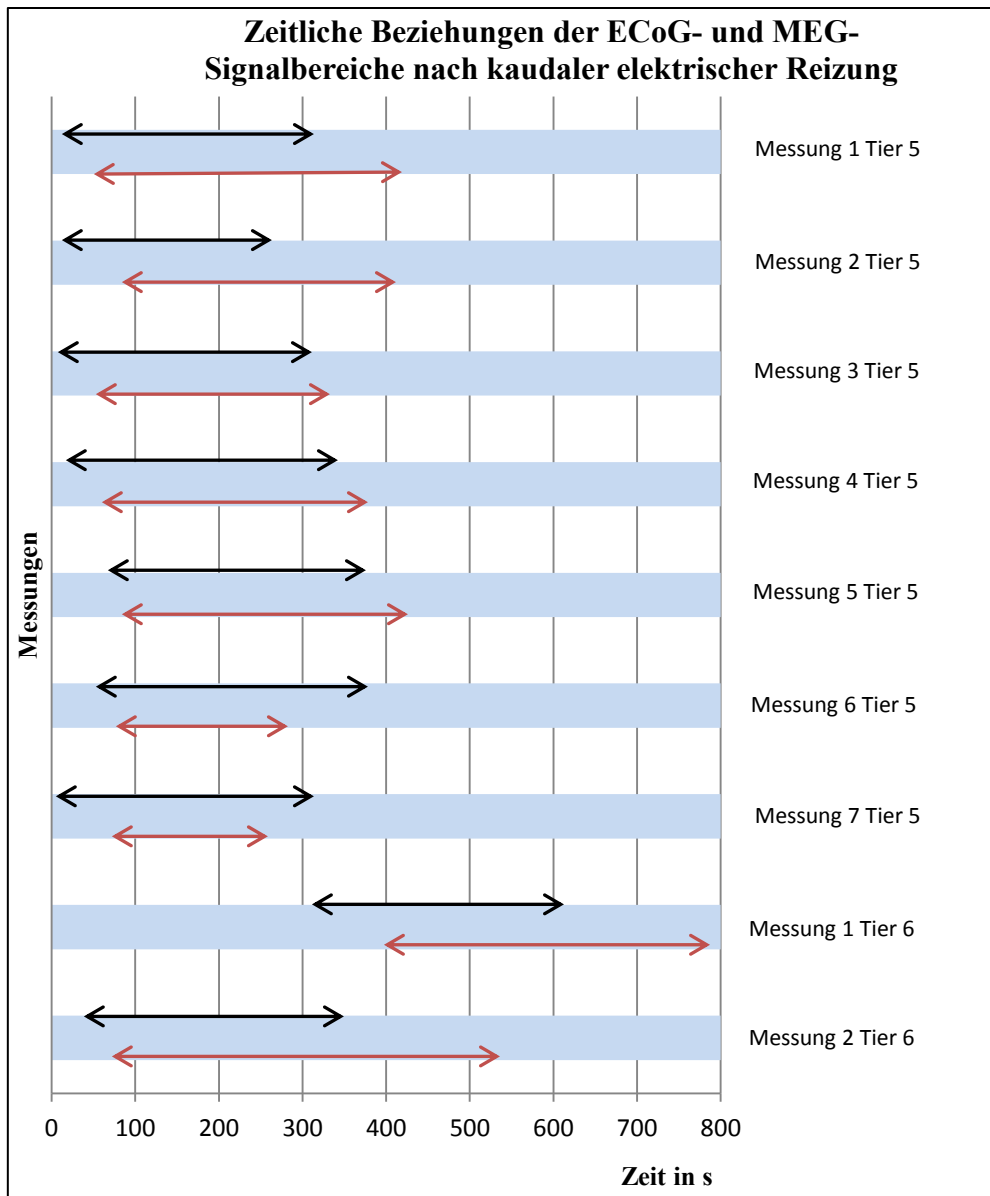


Abb. 3.22: Schematische Darstellung der ECoG- und MEG-Signalbereiche für Messungen, bei denen SD-typische ECoG- und MEG-Signalveränderungen nach kaudaler elektrischer Reizung detektiert werden konnten (schwarzer Doppelpfeil: ECoG-Signalbereich, roter Doppelpfeil: MEG-Signalbereich).

Wie Abb. 3.22. zu entnehmen ist, konnten nach kaudaler elektrischer Stimulation die elektrischen Potentialänderungen im Vergleich zur KCl-Reizung, bedingt durch den kürzeren Abstand zwischen Stimulationsort und Elektrodenarray, frühzeitiger erfasst werden. Der ECoG-Zeitbereich lag hier in allen Messungen durchschnittlich 53 ± 25 s vor dem MEG-Bereich. Bei sieben Messungen überschritt der MEG-Signalbereich den ECoG-Bereich; zweimal lagen die MEG-Veränderungen innerhalb des ECoG-Zeitbereiches. Die simultan erfassten Signale überschnitten sich in sieben von neun SD-Ereignissen in über 50% der gemeinsamen Signaldauer im ECoG und MEG. Eine Messung zeigte eine zeitliche

Überschneidung von 85%. Bei einer mittleren Dauer von 299 ± 23 s bzw. 305 ± 86 s im ECoG bzw. MEG unterschieden sich die Veränderungen hinsichtlich ihrer Signaldauer nicht wesentlich. Da der MEG-Signalsbereich hier anhand von drei Kanälen und nicht anhand der MGFP ermittelt wurde (s. Kapitel 2.7.4.), konnten keine Peaks beschrieben werden (s. Kapitel 3.3.1.4).

3.4.2. Laterale Reizung

Nach lateraler elektrischer Reizung konnten in allen Messungen SD-typische ECoG- und MEG-Veränderungen erfasst werden. Tab. 3.14. veranschaulicht die ECoG- und MEG-Signalsbereiche mit Peaks und entsprechender Signaldauer.

Tab. 3.14: ECoG- und MEG-Signalsbereiche [s], Dauer der Signale [s], Anzahl der Peaks im MGFP-Verlauf sowie Zeitpunkte der Peaks [s] im MEG, nach lateraler elektrischer Reizung

Tier	M	ECoG-Signalsbereich (s)	Dauer (s) ECoG	MEG-Signalsbereich (s)	Dauer (s) MEG	Anzahl Peaks	Zeitpunkt(e) MEG Peak
7	1	43 – 266	223	106 – 358	252	2	145 u. 266
	2	30 – 277	247	67 – 321	254	1	79
	3	29 – 281	252	115 – 431	316	2	134 u. 265
	4	4 – 261	257	71 – 351	280	2	138 u. 239
8	1	30 – 271	241	3 – 195	192	-	-
	2	33 – 285	252	146 – 330	184	2	207 u. 264
	3	29 – 269	240	51 – 317	266	2	89 u. 207
	4	342 – 583	241	432 – 688	256	1	498
	5	36 – 281	245	84 – 277	193	2	151 u. 197

Die mittlere Signaldauer betrug 244 ± 10 s im ECoG und 244 ± 45 s im MEG. In acht der neun Messungen war der Beginn der elektrischen Potentialänderungen 66 ± 30 s vor dem Beginn der Magnetfeldveränderungen messbar. Ähnlich den Ergebnissen nach kaudaler elektrischer Reizung überdauerte der MEG-Signalsbereich anschließend den ECoG-Bereich. In sechs Messungen konnte ein gemeinsamer Zeitbereich über 50% des gesamten Bereiches, in dem sowohl ECoG- und MEG-Veränderungen gemessen wurden, beschrieben werden. Messung 5 bei Tier 8 zeigte mit einem gemeinsamen Zeitbereich von 193 s bei einer Dauer von 245 s (für ECoG- und MEG-Signal) den maximal simultan erfassten Anteil (79%). Die Peaks im MEG fielen hier stets in den ECoG-Signalsbereich, wobei in Messungen mit zwei Peaks der zweite Peak häufig am Ende des ECoG-Bereiches detektiert wurde.

Abb. 3.23. veranschaulicht die zeitliche Beziehung der SD-bedingten Veränderungen im ECoG und MEG nach lateraler elektrischer Reizung.

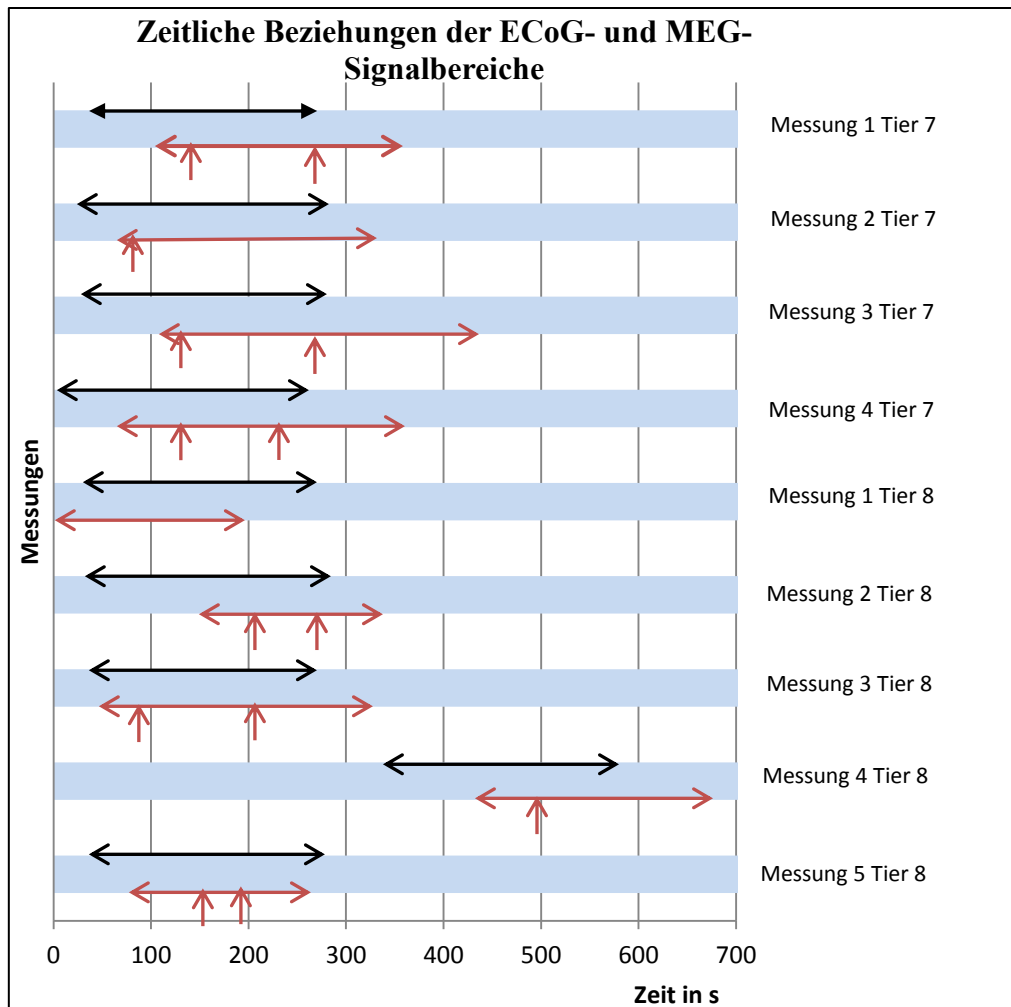


Abb. 3.23: Schematische Darstellung der ECoG- und MEG-Signalbereiche nach lateraler elektrischer Reizung (schwarzer Doppelpfeil: ECoG-Signalbereich, roter Doppelpfeil: MEG-Signalbereich mit Kennzeichnung der Signalpeaks (vertikaler roter Pfeil)).

3.4.3. Rostrale Reizung

Nach rostraler elektrischer Reizung wurden in drei von vier Messungen simultan auftretende ECoG- und MEG-Veränderungen erfasst (s. Tab. 3.15.).

Tab. 3.15: ECoG- und MEG-Signalbereiche, Dauer der Signale, Anzahl der Peaks im MGFP-Verlauf sowie Zeitpunkte der Peaks im MEG nach rostraler elektrischer Reizung.

Tier	M	ECoG-Signalbereich (s)	Dauer (s) ECoG	MEG-Signalbereich (s)	Dauer (s) MEG	Anzahl Peaks	Zeitpunkt(e) MEG Peak
9	1	67 – 371	304	139 – 424	285	2	284 u. 334
	2	87 – 393	306	127 – 181	54	1	144
	3	37 – 333	296	124 – 267	143	1	185
10	1	20 – 317	297	-	-	-	-

Der Beginn des ECoG- Signalbereiches lag im Mittel 66 ± 24 s vor dem Beginn des MEG-Bereiches. Zwei Ereignisse zeigten eine, im Vergleich zum ECoG-Bereich, relativ kurze MEG-Signaldauer, wobei der MEG-Bereich innerhalb des ECoG-Zeitintervalles lag. Die MEG-Signalpeaks befanden sich stets im ECoG-Bereich. Die zeitliche Dynamik nach rostraler Reizung ist Abb. 3.24. zu entnehmen.

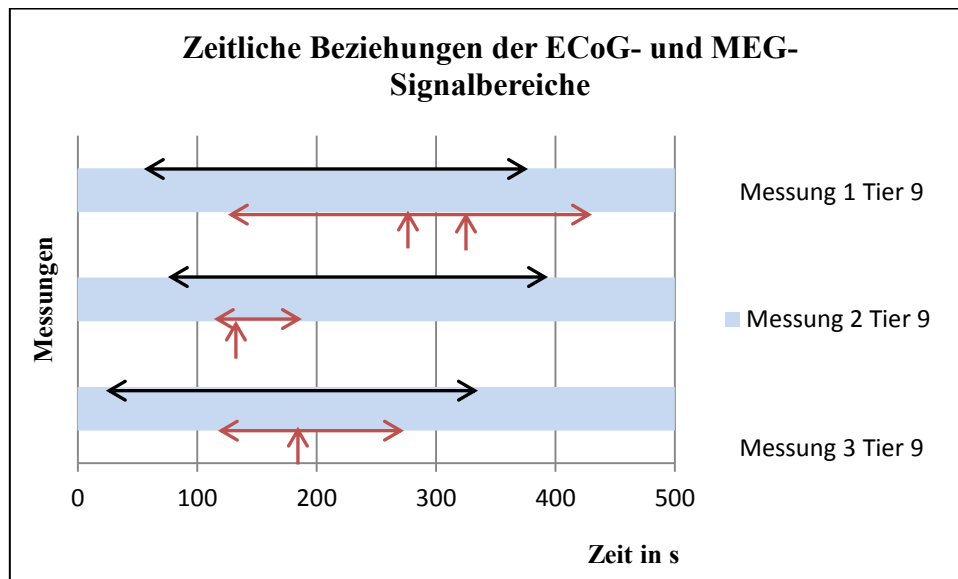


Abb. 3.24: Schematische Darstellung der ECoG- und MEG-Signalbereiche nach rostraler elektrischer Reizung (schwarzer Doppelpfeil: ECoG-Signalbereich, roter Doppelpfeil: MEG-Signalbereich mit Kennzeichnung der Signalmaxima vertikaler roter Pfeil).

Zusammenfassend konnten sowohl nach kaudaler (KCl und elektrisch), lateraler und rostraler Reizung für alle SD-Ereignisse Zeitintervalle beschrieben werden, in denen simultan elektrische und magnetische Veränderungen messbar waren. Diese umfassten oft über 50% der gesamten Dauer, in welcher sowohl ECoG- als auch MEG-Veränderungen auftraten, so dass ein großer Anteil des Ereignisses häufig gleichzeitig durch ECoG und MEG erfasst wurde. Das Auftreten der Signalpeaks im MEG stand jedoch in keiner festen zeitlichen Beziehung zu den ECoG-Zeitbereichen. Diese wurden interessanterweise in 7 von 10 Ereignissen bei kaudaler KCl-Reizung vor oder nach den ECoG-Bereichen detektiert. Nach lateraler und rostraler Reizung (11 Ereignisse mit Auftreten von Peaks) lagen die Peaks stets innerhalb des ECoG-Bereiches.

4. Diskussion

In der vorliegenden Arbeit wurden Spreading Depolarisations mittels simultaner 16-Kanal-Elektrokortikographie und 16-Kanal-Magnetencephalographie bei Ratten erfasst und ihre Propagationsmuster nach kaudaler, lateraler und rostraler kortikaler Reizung sowie deren zeitliche Dynamik zu den MEG-Veränderungen analysiert. Die Resultate zeigen im Einzelnen, dass

- 1.) sowohl nach Stimulation mit KCl als auch nach tetanischer elektrischer Reizung im ECoG SD-typische Depolarisationen erfasst wurden, die eine Propagation über den Kortex aufweisen,
- 2.) nach kaudaler, lateraler bzw. rostraler Reizung unter dem Elektrodenarray eine Propagation in rostrale, mediale bzw. kaudale Richtung nachweisbar ist,
- 3.) hinsichtlich der räumlichen Ausbreitungsmuster zwischen groben Verläufen und komplexeren Verläufen mit häufig wechselnder Orientierung der Propagationsbewegung unterschieden werden kann,
- 4.) nach kaudaler sowie rostraler Reizung inhomogene Propagationsmuster beschrieben werden können,
- 5.) aufgrund unterschiedlicher Latenzen zwischen Erfassung der Depolarisation unter den einzelnen Elektroden unterschiedliche Ausbreitungsgeschwindigkeiten unter dem Elektrodenarray wahrscheinlich sind,
- 6.) sich nach kaudaler KCl- und elektrischer Reizung neben komplexen Propagationsmustern auch wiedererkennbare Muster zeigen; hingegen die Propagation von rostral nach kaudal stärker modifiziert wird,
- 7.) nach lateraler SD-Auslösung eine relativ homogene Propagation in latero-mediale Verlaufsrichtung der Wellenfront beobachtet werden kann,
- 8.) aufgrund relativ konstanter Latenzen zwischen der Erfassung der Depolarisation unter den einzelnen Elektroden annähernd gleiche Propagationsgeschwindigkeiten nach lateraler Reizung wahrscheinlich sind,
- 9.) unabhängig vom Reizort das Ausmaß der Depolarisation in der überwiegenden Zahl der Ereignisse in den lateral gelegenen Arealen am stärksten ist,
- 10.) die zunehmende Entfernung vom Reizort nicht zwingend mit einer Abnahme der Depolarisationsamplitude verbunden ist,

- 11.) häufig eine tendenzielle Abnahme der Amplitude in latero-mediale Verlaufsrichtung sowohl nach lateraler als aber auch nach kaudaler Reizung erkennbar ist,
- 12.) die kortikalen Ströme Magnetfelder hervorrufen, die mit einer Zu- und Abnahme der mittleren globalen Magnetfeldstärke (MGFP) verbunden sind,
- 13.) in Abhängigkeit von der Entfernung Reizort – Elektrodenarray entweder das MEG oder das ECoG zuerst das Auftreten einer SD signalisieren,
- 14.) inter- und intraindividuell anhand der MGFP Verlaufsmuster mit einem oder zwei Signalpeaks beschrieben werden können,
- 15.) im ECoG- und MEG über einen längeren Zeitbereich simultan Signalanteile des zugrunde liegenden Ereignisses erfasst werden.

Als wesentliches Resultat dieser Arbeit gilt, dass Spreading Depolarisations in Abhängigkeit von ihrem Initiationsort durch inhomogene oder homogene zeitliche und räumliche Verlaufsmuster im ECoG gekennzeichnet sind. Die im ECoG erfassten Potentialänderungen und die begleitenden Ionenströme bewirken Magnetfelder, die über einen längeren Zeitraum parallel zu den elektrischen Veränderungen messbar sind. Daher kann das Ereignis simultan im ECoG und im MEG mit übereinstimmenden Zeitintervallen erfasst werden. Das Auftreten der Signalpeaks im MEG steht in keiner festen zeitlichen Beziehung zu den ECoG-Signalbereichen; diese können jedoch in der überwiegenden Zahl der Fälle innerhalb des ECoG-Bereiches beobachtet werden. Den MGFP-Verlaufsmustern mit ein oder zwei Peaks können weder bestimmte Reizorte noch bestimmte Ausbreitungsmuster im ECoG, auch nicht bei Ereignissen mit homogener Propagation, zugeordnet werden. Somit ist nur durch simultane Anwendung beider Messverfahren eine umfassende Charakterisierung von Spreading Depolarisations möglich.

4.1. Allgemeine Eigenschaften der Spreading Depolarisations im ECoG

In der vorliegenden Arbeit konnten insgesamt 38 SD-Ereignisse, welche die in der Methode definierten Kriterien erfüllten (s. Kapitel 2.6.1.), beobachtet werden. Sowohl nach kaudaler (KCl- und elektrischer Reizung), lateraler und rostraler Reizung zeigten sich Depolarisationen, die hinsichtlich ihres Potentialverlaufs im 16-Kanal-ECoG ähnlich waren. In allen Messungen wurden SD-typische negative Potentialänderungen detektiert. Gemessen am 50%-Wert, dem Zeitpunkt, zu dem die Hälfte der maximalen Depolarisation erreicht war, konnte für jedes

Ereignis eine Propagation im ECoG nachgewiesen werden. Somit kann davon ausgegangen werden, dass eine einmal ausgelöste SD auch über den Kortex propagiert. Zudem zeigt diese Arbeit, dass eine einmal ausgelöste SD auch in unterschiedlichen kortikalen Arealen stets eine Propagation aufweist.

In vorangegangenen Studien wird über eine Dauer der SDs von 60-180 s berichtet (Leão 1947, Hansen and Lauritzen 1984). Wie in Kapitel 2.6.5. beschrieben, war die Definition eines Signalendes im ECoG aufgrund möglicher lang anhaltender Trends schwierig. Für vier Depolarisationen konnte jedoch ein Signalende ermittelt werden, so dass für diese Ereignisse eine mittlere Dauer des SD-Ereignisses von 211 ± 9 s zu verzeichnen war. Dies zeigt, dass die SD-typischen Potentialänderungen deutlich länger sein könnten als die in der Literatur beschriebenen.

4.1.1. Propagation der Spreading Depolarisations im ECoG

Diese Arbeit analysiert die Propagationen einer SD im 16-Kanal-ECoG nach Reizung in verschiedenen kortikalen Regionen. Trotz Standardisierung der Versuchsbedingungen wurden im ECoG sowohl inter- als auch intraindividuell häufig sehr komplexe Ausbreitungsmuster beobachtet, so dass zum Teil auf Einzelfallbeschreibungen zurückgegriffen werden musste. Durch Analyse der SD im 16-Kanal-ECoG mit hoher räumlicher Auflösung und unter Berücksichtigung der verschiedenen kortikalen Areale mit spezifischer Morphologie konnten in der vorliegenden Arbeit wesentlich komplexere Muster als bisher beschrieben werden. Trotzdem konnten für mehrere Ereignisse nach kaudaler und für alle Ereignisse nach lateraler Reizung auch wiederkehrende, einheitliche Muster eruiert werden.

Nach kaudaler Reizung konnte eine Propagation in kaudo-rostrale, nach lateraler Reizung in latero-mediale und nach rostraler Reizung in rostro-kaudale Richtung unter dem Elektrodenarray nachgewiesen werden. Dabei zeigten sich im Verlauf von kaudal nach rostral bzw. von rostral nach kaudal sehr komplexe, inhomogene Muster mit häufig wechselnder Orientierung der SD-Wellenfront. Anhand des 50%-Wertes der maximalen Depolarisationsamplitude konnte für jedes Ereignis eine Propagation beschrieben werden, wobei zwischen einer allgemeinen, groben Verlaufsrichtung und einer komplexeren Verlaufsform mit häufig wechselnden Beziehungen zwischen den Elektroden unterschieden werden muss. Für 11 Messungen nach kaudaler KCl- und elektrischer Reizung sowie vier Messungen nach rostraler Reizung konnten äußerst komplexe Verlaufsformen beschrieben werden. Hingegen fanden sich bei 14 von 25 Messungen nach kaudaler Reizung grobe

Verläufe mit einer zum Teil lateralen bzw. medialen Ausrichtung der Propagationsbewegung von kaudal nach rostral, die intraindividuell in aufeinanderfolgenden Messungen nachweisbar war. Durch Anwendung des 16-Kanal-ECoGs können somit zwar komplexe Propagationsmuster beschrieben werden, jedoch weisen diese hinsichtlich ihres groben Verlaufs durchaus auch wiedererkennbare Muster auf.

Nach kaudaler und rostraler Reizung konnten unter dem Elektrodenarray keine Areale definiert werden, die bevorzugt und frühzeitig von der SD-Welle erfasst wurden. Intraindividuell signalisierten oft unterschiedliche Elektroden den Depolarisationsbeginn (= Beginn an der ersten Elektrode, die eine SD misst). In der vorliegenden Arbeit fanden sich keine Indikatoren, die frühzeitig auf ein bestimmtes Ausbreitungsmuster hinwiesen.

4.1.2. Propagationsgeschwindigkeiten im ECoG

Nach kaudaler (KCl- und elektrischer Reizung), lateraler und rostraler Reizung wurden mittlere Propagationsgeschwindigkeiten von 2,72 bis 6,11 mm/min ermittelt, die mit den Angaben aus der Literatur vergleichbar sind. Bereits Leão beschrieb eine Ausbreitung der SD-Welle mit 2-5 mm/min (Leão 1946). Die Propagationsgeschwindigkeit wurde nur dann ermittelt, wenn unter allen vier Elektroden einer Reihe eine Depolarisation detektiert wurde und ein eindeutiger Verlauf in die Propagationsrichtung zu erkennen war. Da sich die Depolarisationswelle vom Ort der Initiation jedoch in verschiedene Richtungen ausbreitet, muss zukünftig die komplexe Geometrie des Kortex in die Berechnung der Propagationsgeschwindigkeit einfließen. Aufgrund unterschiedlicher Latenzen zwischen Erreichen der Hälfte der maximalen Depolarisation (50%-Wert) unter dem Elektrodenarray nach kaudaler und rostraler Reizung sind unterschiedliche Propagationsgeschwindigkeiten im Verlauf der SD von kaudal nach rostral bzw. von rostral nach kaudal wahrscheinlich. Auch Eiselt et al. beschrieben 2004 unterschiedliche Geschwindigkeiten bei inhomogener Ausbreitung der Wellenfront (Eiselt et al. 2004), was auch mit den Ergebnissen dieser Arbeit vereinbar ist.

4.2. Propagationsmuster in Abhängigkeit vom Reizort

Im Vordergrund der ECoG-Auswertung stand die Analyse der räumlichen und zeitlichen Ausbreitungsmuster im 16-Kanal-ECoG nach kaudaler, lateraler und rostraler Reizung. Auffällig war, dass nach kaudaler (sowohl KCl- als auch elektrische Reizung) sowie nach

rostraler Reizung inhomogene Verlaufsmuster mit häufig wechselnder Orientierung der Propagationsbewegung beschrieben werden konnten. Nach lateraler Reizung wurden hingegen homogene Propagationsmuster beobachtet, wobei der räumliche und zeitliche Verlauf im ECoG intra- und interindividuell reproduzierbar war. Dies spiegelte sich v.a. in relativ konstanten Latenzen zwischen den 50%-Werten der Elektrodenreihen wider, so dass relativ konstante Propagationsgeschwindigkeiten nach lateraler Reizung wahrscheinlich sind. Das Elektrodenarray bedeckte Anteile des occipitalen, parietalen und frontalen Kortex des Rattengehirns, die hinsichtlich ihrer histologischen Eigenschaften Unterschiede aufweisen, auf die später eingegangen wird. Dabei lagen die kaudalen Elektroden E2 – E4 nahe dem occipitalen Kortex, die Elektroden E1, E5 und E9 über Anteilen des parietalen Kortex und die Elektroden E10 – E16 über denen des frontalen Kortex. Die unterschiedliche Morphologie der beteiligten Areale scheint die räumliche und zeitliche Propagation entscheidend zu beeinflussen, so dass die einzelnen Abschnitte nicht gleichermaßen stark und nicht gleichermaßen schnell von der Depolarisationswelle erfasst werden. In der Literatur werden mögliche Ursachen für die inhomogene Ausbreitung der SD-Welle beschrieben. Dabei spielen die lokale Zytoarchitektur, das Verhältnis zwischen Neuronen- und Gliazelldichte sowie die lokale Verteilung der Transmittersysteme und der Ionenkanäle eine Rolle (Somjen 2001). Dies hat zur Folge, dass bestimmte kortikale Strukturen weniger stark von der Depolarisation erfasst werden bzw. an einzelnen Elektroden seltener eine Depolarisation gemessen werden kann. Aufgrund der unterschiedlichen Latenzen zwischen dem Auftreten der 50%-Werte unter den Elektroden der einzelnen Reihen von kaudal nach rostral bzw. von rostral nach kaudal sind unterschiedliche Propagationsgeschwindigkeiten unter dem Elektrodenarray wahrscheinlich. Bereits die Ergebnisse aus Leão's Studien am Kaninchenkortex zeigten, dass SD kein homogener Prozess ist, der alle kortikalen Strukturen gleichermaßen erfasst. Schon 1944 postulierte er, dass Spreading Depression in bestimmten Regionen, wie der Area retrosplenialis, nicht auslösbar ist und in frontalen sowie in occipitalen Arealen bevorzugt ausgelöst werden kann (Leão 1944). Fifková beobachtete in anschließenden in-vivo Untersuchungen eine eingeschränkte Propagation der SD-Welle in der Area retrosplenialis (Fifková 1964). Eiselt et al. konnten zudem eine Reduktion der Propagationsgeschwindigkeit in diesem Bereich nachweisen (Eiselt et al. 2004). So zeigte sich in unseren Untersuchungen, dass nach kaudaler sowie nach rostraler Reizung wiederholt unter den medialen Elektroden E4, E8 und E12, die einen Teil der Area retrosplenialis bedeckten, seltener Depolarisationen erfasst wurden.

Interessanterweise konnten 11 mal nach kaudaler Reizung und 4 mal nach rostraler Reizung intraindividuell variierende Muster mit äußerst komplexen Verlaufsformen beschrieben werden, bei denen die einzelnen kortikalen Areale mal mehr und mal weniger stark von der Depolarisation erfasst worden. Bereits Leão bemerkte, dass sich die von ihm entdeckte Spreading Depression nicht zuverlässig reproduzieren lässt (Leão and Morison 1945). Als mögliche Ursache dieses Phänomens sei die momentane Aktivität der beteiligten zellulären Strukturen genannt. Zudem müssen der lokale momentane Energiestoffwechsel sowie die Funktion der Na-K-ATPase in Betracht gezogen werden (Dreier et al. 2013).

Bei 14 von 25 Ereignissen nach kaudaler KCl- und elektrischer Reizung zeigten sich annähernd reproduzierbare Propagationsmuster, wobei sieben Ereignisse einen groben Verlauf von kaudal-lateral nach rostral-medial und sieben Ereignisse einen Verlauf von kaudal-medial nach rostral-lateral zeigten. Aus diesen Ergebnissen geht hervor, dass keine eindeutigen Areale definiert werden konnten, die bevorzugt und frühzeitig von der Depolarisation erfasst werden.

Das Muster der räumlichen Ausbreitung variierte bei rostraler Reizung stärker als bei kaudaler Reizung. Nach kaudaler Reizung zeigten sich zumindest in 14 Messungen reproduzierbare Muster mit einer lateralen bzw. medialen Ausrichtung der Propagationsbewegung. Ebenso war der Anteil der Messungen, bei denen unter den einzelnen Elektroden eine Depolarisation gemessen wurde, bei rostraler Reizung geringer. Godhukin und Obrenovitch zeigten in Untersuchungen an Mäusen, dass nach Auslösung einer SD im occipitalen Kortex, im Vergleich zu frontaler SD-Auslösung, eine größere Anzahl an Depolarisationen sowie schnellere Ausbreitungsgeschwindigkeiten im Verlauf von occipital nach frontal als umgekehrt auftraten (Godhukin and Obrenovitch 2001). Auch sie beobachteten, dass sich die Propagation sowie die Anzahl der erfassten SD-Depolarisationen in Abhängigkeit vom Reizort unterscheiden. Abhängig davon, ob die SD in kaudo-rostrale oder rostro-kaudale Richtung propagiert, kristallisierten sich trotz der teilweise komplexen Propagationsmuster auch in unserer Studie stärker variierende Verläufe nach rostraler Reizung heraus. Der Verlauf in diese Richtung erschien weitaus heterogener als in kaudo-rostrale Richtung. In Anlehnung an die Beobachtungen von Godhukin und Obrenovitch wurden nach rostraler Reizung ebenfalls weniger SD-Depolarisationen unter dem Elektrodenarray gemessen. Vinogradova et al. beobachteten nach SD-Auslösung im parieto-occipitalen Kortex, dass die SD-Welle in subkortikale Strukturen, wie den Nucleus caudatus, eintrat und als Re-entry-Welle zum Neokortex zurückkehrte. Auffällig war, dass sich die zeitlichen Latenzen nach Auslösung und Erfassung einer SD im Kortex bzw. im Nucleus

caudatus und umgekehrt unterschieden, was zu der Annahme führte, dass die Welle unterschiedliche Wege nimmt (Vinogradova et al. 1991). Die Arbeit von Vinogradova et al. zeigt ebenfalls, dass die Depolarisationswelle in Abhängigkeit vom Reizort durch unterschiedliche Verläufe gekennzeichnet ist. Obwohl die SD-Wellenfront auf ihrem Weg von kaudal nach rostral bzw. von rostral nach kaudal die gleichen kortikalen Areale passiert, unterscheiden sich die räumlichen und zeitlichen Verläufe sowie die Anzahl der gemessenen Depolarisationen in Abhängigkeit vom Ort des Stimulus. Scheinbar führt die Auslösung einer SD im kaudalen Abschnitt, der occipitale Kortexanteile bedeckte, zu einer eher reproduzierbaren Propagation, welche die beteiligten Strukturen in größerem Ausmaß erreicht. Dies sollte anhand einer größeren Anzahl an Versuchstieren in weiteren Untersuchungen präzisiert werden.

Interessanterweise konnten nach Reizung im lateralen Kortex vergleichsweise homogene Ausbreitungsmuster unter dem Elektrodenarray beschrieben werden. Aufgrund der geringfügig variierenden Latenzen zwischen dem Auftreten der 50%-Werte sind relativ konstante Propagationsgeschwindigkeiten in latero-mediale Verlaufsrichtung wahrscheinlich. Die SD-Wellenfront breitete sich bei lateraler Reizung derart aus, dass immer erst alle Elektroden einer rostro-kaudalen Reihe die SD erfassten, bevor in der nächsten Reihe das SD-Ereignis gemessen wurde. SD-Wellenanteile, die eine Ausrichtung nach kaudal oder rostral hatten, konnten nicht nachgewiesen werden. Somit konnten nach lateraler Reizung intra- und interindividuell homogene Propagationsmuster beschrieben werden. Auffallend war ebenfalls, dass in jeder Messung unter allen Elektroden, auch unter den medial gelegenen Elektroden E4, E8 und E12, eine Depolarisation gemessen werden konnte. Daher führt eine im lateralen Areal ausgelöste SD mit hoher Wahrscheinlichkeit zu einer gleichförmigen Propagation, die die beteiligten Strukturen auch gleichermaßen erfassen kann. Aus vorangegangenen Studien ist bekannt, dass die Entstehung und Propagation einer SD von dem Verhältnis zwischen Neuronen- und Gliazelldichte und dem Zusammenspiel beider Zellarten abhängig ist (Martins-Ferreira et al. 2000). Die lateralen Elektroden lagen über Teilen des parietalen Kortex. Im Unterschied zum frontalen Kortex weist der parietale Kortex eine stark ausgeprägte Schicht IV auf, die hauptsächlich durch dicht nebeneinander liegende Pyramidenzellen gekennzeichnet ist (Wise and Donoghue 1984). Gleichzeitig findet sich hier die verhältnismäßig geringste Gliazelldichte (Gabbott and Stewart 1987). Gliazellen sind maßgeblich an der Regulation der extrazellulären Ionenhomöostase, speziell der extrazellulären Kaliumkonzentration, beteiligt, sodass bei reduzierter Aufnahme von Kalium über die Neuroglia die Schwelle für eine SD sinkt (Kager et al. 2002). Dies könnte erklären,

warum in Abschnitten des parietalen Kortex (laterale Abschnitte des Elektrodenarrays) häufiger SDs erfasst werden können. Auch Strong et al. beschrieben, dass bei einer erhöhten Anzahl an Gliazellen die Wahrscheinlichkeit des Auftretens einer SD sinkt, was letztlich auch die Propagation entscheidend beeinflusst (Strong et al. 2000). Wir konnten in der vorliegenden Studie nachweisen, dass nicht nur die Anzahl an Depolarisationen und das Depolarisationsausmaß der im parietalen Kortex erfassten SDs höher ist, sondern zudem eine homogene Propagation beobachtet werden kann, wenn die Spreading Depolarisation hier ihren Ausgang nimmt.

Zusammenfassend konnten folgende Erkenntnisse hinsichtlich der Propagation nach kaudaler, rostraler und lateraler Reizung gewonnen werden: Nach kaudaler und rostraler SD-Auslösung konnten inhomogene Propagationsmuster beschrieben werden, die in ihrem Verlauf von kaudal nach rostral bzw. von rostral nach kaudal die beteiligten kortikalen Strukturen nicht gleichermaßen und häufig unter Aussparung der medial gelegenen Abschnitte erfassten. Dabei konnten nach rostraler Reizung stärker variierende Muster beobachtet werden. Nach lateraler Reizung geht die SD-Wellenfront in eine relativ gleichförmige Propagation mit relativ konstanten Ausbreitungsgeschwindigkeiten über. Somit zeigen diese Untersuchungen, dass die Propagation der SD in den unterschiedlichen kortikalen Arealen entscheidend durch die Histologie beeinflusst wird. Dabei könnte die homogene Ausbreitung der Depolarisationswelle im parietalen Kortex (laterale Reizung) in der niedrigen Gliazelldichte und relativ hohen Neuronendichte begründet sein. Weiterhin kann anhand der vorliegenden Ergebnisse gezeigt werden, dass die Auslösung einer SD aufgrund der lokalen Gewebeeigenschaften im frontalen Kortex (rostrale Reizung) zu stärker variierenden Propagationsmustern und einer geringeren Anzahl an Depolarisationen als nach Auslösung im occipitalen Kortex (kaudale Reizung) führen kann. Diese Arbeit zeigt in detaillierter Form, dass die Auslösung einer SD in Regionen unterschiedlicher Morphologie zu einer unterschiedlichen Ausprägung der Propagation führt und nicht immer alle beteiligten Strukturen gleichermaßen erfasst werden.

4.3. Maximale Depolarisationsamplituden im ECoG nach kaudaler, lateraler und rostraler Reizung

Nach kaudaler KCl- und elektrischer Reizung, lateraler bzw. rostraler Reizung wurden mittlere Depolarisationsamplituden von $-1,45 \pm 0,9$ mV und $-3,32 \pm 1,2$ mV, $-6,7 \pm 1,93$ mV

bzw. $-2,51 \pm 2,56$ mV erfasst. Auf die Unterschiede zwischen KCl- und elektrischer Reizung soll im nachfolgenden Abschnitt gesondert eingegangen werden. Die gemessenen Amplitudenwerte lagen im Mittel unter den in der Literatur angegebenen Werten von 10-30 mV (Kraig and Nicholson 1978). Diese wurden jedoch unter Anwendung von Mikroelektroden intrakortikal erfasst.

Intraindividuell wurden häufig nahezu gleiche Amplitudenwerte unter den einzelnen Elektroden (E1 – E16) erfasst. Zwischen den einzelnen Abschnitten des Elektrodenarrays variierten die Amplitudenwerte jedoch deutlich, was zeigt, dass das Ausmaß der Depolarisation in den einzelnen kortikalen Arealen nicht gleich ist. Beispielsweise konnten bei Tier 7 in Messung 1 Werte von -6,54 mV (unter E1) bis -14,88 mV (unter E13) gemessen werden. Lokale Unterschiede hinsichtlich der Stärke der Depolarisation wurden unabhängig vom Reizort bei allen SD-Ereignissen beobachtet.

Auffällig war, dass sich sowohl nach kaudaler, lateraler als auch nach rostraler Reizung bei 21 der 38 SD-Ereignisse die höchsten Amplitudenwerte unter den Elektroden E1, E5, E9 oder E13 zeigten, die Anteile des parietalen Kortex bedeckten. Wie in Kapitel 4.2. beschrieben, weist die Schicht IV in dieser Region die niedrigste Gliazelldichte bei verhältnismäßig hoher Neuronendichte auf (Gabbott and Stewart 1987). Das Verhältnis zwischen Gliazell- und Neuronendichte scheint somit neben der Propagation auch das Ausmaß der Depolarisation entscheidend zu beeinflussen, was sich letztlich in einer stärkeren Depolarisation aufgrund der erhöhten Anzahl der beteiligten Neurone widerspiegeln kann. Hingegen konnten nach kaudaler und rostraler Reizung wiederholt unter den medialen Elektroden E4, E8 und E12, die einen Teil der Area retrosplenialis bedeckten (s. Kapitel 4.2.), nicht nur seltener Depolarisationen, sondern auch geringere Depolarisationsamplituden erfasst werden. Die Area retrosplenialis weist eine vergleichsweise dünne Schicht IV auf (Vogt 1984), sodass das Verhältnis zwischen Neuronen- und Gliazelldichte nicht nur die Wahrscheinlichkeit des Auftretens einer SD beeinflusst (Strong et al. 2000), sondern auch das Ausmaß der Depolarisation.

Unabhängig vom Ort des Stimulus konnten die höchsten Amplitudenwerte teils kaudal-lateral (unter E1, E2 oder E5) oder rostral-lateral (unter E9, E13 oder E14) detektiert werden. In sieben Messungen zeigten sich nach kaudaler elektrischer Reizung die höchsten Werte rostral lateral unter E13, also an der Grenze zwischen frontalem und parietalem Kortex. Nach rostraler Reizung konnten die Maximalwerte in zwei von vier Messungen wiederum unter der Elektrode E1 kaudal-lateral (nahe der Occipitalregion) gemessen werden. Betrachtet man die Verteilung der maximalen Depolarisationsamplituden unter dem Elektrodenarray nach

kaudaler Reizung, so fällt auf, dass bei sieben von 25 SD-Ereignissen eine tendenzielle Abnahme und bei fünf der 25 Ereignisse eine tendenzielle Zunahme der Amplitudenwerte mit zunehmender Entfernung vom Reizort erkennbar war. Diese Ergebnisse zeigen, dass die zunehmende Entfernung vom Reizort nicht zwingend mit einer geringeren Depolarisationsamplitude verbunden ist.

Interessanterweise war in 15 von 25 Ereignissen nach kaudaler und in fünf von acht Ereignissen nach lateraler Reizung eine Abnahme der Werte in latero-mediale Verlaufsrichtung zu verzeichnen. Dies unterstreicht nochmals, dass unter den lateralen Abschnitten des Elektrodenarrays, die über dem parietalen Kortex lagen, eine stärkere Depolarisation gemessen werden kann. Somit scheint nicht die Nähe zum Reizort, sondern vielmehr die Morphologie der kortikalen Areale mit dem lokalen Verhältnis zwischen Neuronen und Gliazellen das Ausmaß der Depolarisation zu bestimmen. Neben dem Zusammenspiel von Neuronen und Gliazellen können ebenso die lokale intra- und extrazelluläre Ionenverteilung, der lokale Energiestoffwechsel sowie die Aktivität der beteiligten Ionenkanäle ausschlaggebend sein.

Bei 11 Ereignissen zeigte sich kein Trend. Die Werte zwischen kaudal und rostral bzw. lateral und medial gelegenen Elektroden unterschieden sich hier nicht wesentlich ($< 30\%$). Daher können die unterschiedlichen kortikalen Regionen nach Auslösung einer SD auch nahezu gleichermaßen depolarisieren. Die Frage, wann eine SD zu einer gleichmäßigen oder ungleichmäßigen Depolarisation der betroffenen Areale führt, kann jedoch anhand dieser Arbeit nicht geklärt werden und muss in weiteren Untersuchungen näher beleuchtet werden. Die detaillierte Analyse der Verteilung der Amplitudenwerte im 16-Kanal-ECoG beschreibt jedoch neu, dass die SD auch hinsichtlich des Ausmaßes der Depolarisation ein äußerst komplexer Prozess ist.

4.4. Spreading Depolarisations nach kaudaler KCl- und elektrischer Reizung

Um zu untersuchen, ob die Reizmodalität Einfluß auf die SD-Propagation nimmt, wurden bei kaudaler Reizung SDs mittels KCl oder tetanisch elektrischer Stimulation ausgelöst. Die Ergebnisse zeigen, dass sowohl nach KCl- als auch nach elektrischer Reizung SDs erfasst wurden, die hinsichtlich des Potentialverlaufs im ECoG und der Propagationsmuster unter dem Elektrodenarray vergleichbar sind. Die intra- und interindividuellen Unterschiede haben ein relativ hohes Ausmaß, so dass bei der hier untersuchten geringen Anzahl an Tieren mögliche Unterschiede zwischen den beiden Reizmodalitäten nicht in umfassender Form

nachgewiesen werden konnten. Bezüglich der Anzahl der erfassten SDs unter dem Elektrodenarray, der Depolarisationsamplituden und der Propagationsgeschwindigkeit konnten jedoch potentielle Unterschiede erarbeitet werden.

4.4.1. Spreading Depolarisations im Elektrokortikogramm

Nach KCl-Applikation wurden häufiger unter den rostral (E10, E14, E15) als unter den kaudal gelegenen Elektroden (E1 – E4) SDs gemessen. Tier 1 zeigte sogar in allen drei Messungen keine SDs unter der kaudalen Elektrodenreihe, Defekte an den Elektroden konnten als mögliche Ursache ausgeschlossen werden. Nach elektrischer Reizung war der Anteil der Messungen, bei denen durch die einzelnen Elektroden eine SD erfasst wurde, deutlich höher. Unter den kaudalen Elektroden E1 – E3, E5 und E6 sowie unter den lateralen Elektroden E1, E5, E9 und E13 wurde stets eine Depolarisation detektiert. Hingegen konnte bei Tier 4 nach KCl-Reizung bis auf E1 und E5 unter allen Elektroden eine Depolarisation erfasst werden, so dass die Reizmodalität nicht der einzige Faktor für Nichterfassen einer Depolarisation unter einem bestimmten Areal zu sein scheint. Die Ergebnisse nach KCl-Reizung unterstreichen nochmals, dass die einzelnen kortikalen Areale nicht gleichermaßen von der SD-Welle erfasst werden. So waren hier bevorzugt in den rostralen Abschnitten Depolarisationen messbar. Diese Abschnitte lagen zum Teil über Anteilen des frontalen Kortex, wobei schon Leão eine gesteigerte Empfindlichkeit für SDs in dieser Region nachweisen konnte (Leão 1944). Häufig waren nahe dem Reizort keine Depolarisationen zu verzeichnen. Unter den mittleren und rostralen Abschnitten des Elektrodenarrays konnte jedoch eine SD-Propagation mit typischem zeitlichen und räumlichen Verlauf beschrieben werden. Dies würde bedeuten, dass die Depolarisationswelle unter gewissen Umständen auch bestimmte Kortexanteile umgehen und somit „aussparen“ könnte. Dass derartige Ausbreitungsmuster möglich sind, konnten Untersuchungen an Ratten von Koroleva und Bures zeigen. Diese beobachteten, dass eine SD-Welle, die auf ein durch repetitive elektrische Stimulation geblocktes Areal trifft, dieses umgeht und schließlich kreisende Wellen um das SD-geblockte Gebiet entstehen (Koroleva and Bures 1979). Eine solche Blockade könnte in unseren Untersuchungen durch Alterationen des Kortex nach vorangegangener Präparation und Kraniotomie verursacht worden sein.

Aufgrund des größeren Abstandes zwischen KCl-Bohrloch und Elektrodenarray (5,6 mm zu E1, 6,4 mm zu E4) konnten nach KCl-Reizung im Mittel nach 350 ± 98 s Depolarisationen unter den ersten Elektroden erfasst werden. Nach elektrischer Reizung konnten bei einem

Abstand zwischen Reizelektroden und Array von 2 mm frühzeitiger, im Mittel 67 ± 93 s, Depolarisationen gemessen werden.

4.4.2. Maximale Depolarisationsamplituden

Nach KCl-Reizung wurden mittlere Depolarisationsamplituden von $-1,45 \pm 0,9$ mV gemessen. Die Werte unter dem Elektrodenarray schwankten zwischen $-0,18$ mV und $-5,56$ mV. Die maximalen Depolarisationsamplituden fanden sich häufig unter den Elektroden E1, E2 und E5-E7, also kaudal lateral. Nach elektrischer Reizung wurden mittlere Depolarisationsamplituden von $-3,32 \pm 1,2$ mV und somit vergleichsweise höhere Werte erfasst. Auch bei elektrischer Reizung an anderen Orten (lateral oder rostral Reizung) zeigten sich höhere Amplitudenwerte im Vergleich zu KCl-Reizung. Eine mögliche Erklärung wäre, dass der Trigger über die Reizelektroden so stark zu sein scheint, dass durch die größere Eindringtiefe auch tiefer gelegene Zellschichten und somit größere Zellverbände erreicht werden, die an der Depolarisation beteiligt sind und somit eine größere Verschiebung des extrazellulären Potentials bewirken.

4.4.3. Räumliche und zeitliche Propagation im Elektrokortikogramm

Nach KCl- und elektrischer Reizung zeigten sich vergleichbare räumliche Propagationsmuster. Weder nach KCl- noch nach elektrischer Reizung verlief die Ausbreitung parallel zu den Elektrodenreihen. Vielmehr konnte einerseits bei beiden Reizmodalitäten eine laterale oder mediale Ausrichtung der Propagationsbewegung beobachtet werden. Andererseits war der Verlauf der Depolarisationswelle von kaudal nach rostral äußerst komplex und durch häufig wechselnde Beziehungen zwischen den einzelnen Elektroden gekennzeichnet. Anhand der Latenzen zwischen dem Auftreten der 50%-Werte unter den kaudal und rostral gelegenen Elektroden konnte eine Propagation in kaudo-rostrale Richtung beschrieben werden. Die mittleren Latenzen zwischen den jeweils am weitesten kaudal und rostral gelegenen Elektroden betrugen 34 ± 27 s nach KCl- und 81 ± 27 s nach elektrischer Reizung. Die ermittelten Propagationsgeschwindigkeiten von $6,34$ mm/min nach KCl-Reizung bzw. $2,98$ mm/min nach elektrischer Stimulation zeigen, dass die SD-Wellenfront nach KCl-Reizung langsamer voranzuschreiten scheint.

Zusammenfassend konnten nach KCl- und elektrischer Reizung ähnliche räumliche Propagationsmuster mit einer zum Teil lateralen bzw. medialen Ausrichtung beobachtet

werden, so dass nicht die Reizmodalität, sondern eher die morphologischen Unterschiede der beteiligten Strukturen die Propagation entscheidend beeinflussen.

4.5. Allgemeine Eigenschaften der SD-assozierten MEG-Veränderungen

Typische SD-assozierte Magnetfeldveränderungen wurden bei 31 von 38 Ereignissen beobachtet. In sieben Messungen konnten demzufolge keine signifikanten Magnetfeldveränderungen erfasst werden. Die Dauer der MEG-Signalveränderungen zeigte eine große Varianz und betrug im Mittel 362 ± 136 s nach kaudaler KCl- und 305 ± 86 s nach kaudaler elektrischer Reizung, 244 ± 45 s bzw. 161 ± 116 s nach lateraler bzw. rostraler Reizung.

Die hier erfassten Magnetfeldstärken lagen (unter Berücksichtigung aller Hauptkomponenten) im Bereich von 1-3 pT bei einem Abstand von ca. 6 mm zwischen Detektionsspule und Kortexoberfläche (s. Kapitel 2.3.2.). Da die absolute Magnetfeldstärke von der Distanz zum untersuchenden Objekt abhängig ist (Gardner-Medwin et al. 1991), ist ein direkter Vergleich mit anderen Studien schwierig. Gardner-Medwin et al. konnten nach KCl-induzierten Spreading Depressions am in-vivo Tiermodell Magnetfeldstärken bis 1,4 pT bei einer Distanz von 20-25 mm messen (Gardner-Medwin et al. 1991). Okada et al. beschrieben 1988 bei einer Distanz von 17 mm Magnetfeldstärken bis 8 pT (Okada et al. 1988). Dabei muss bedacht werden, dass die Studien an Kleinhirnpräparaten in-vitro durchgeführt wurden und einerseits das Präparat so ausgerichtet werden konnte, dass wesentlich stärkere Magnetfelder als beim in-vivo Tiermodell erfassbar waren. Andererseits muss die gute Leitfähigkeit im Flüssigkeitsbad bei elektrischer Reizung in-vitro berücksichtigt werden (Gardner-Medwin et al. 1991). Ungeachtet der unterschiedlichen Messbedingungen liegen die in der vorliegenden Arbeit beschriebenen Magnetfeldstärken in dem Bereich, der aus der Literatur bekannt ist.

4.5.1. Verlaufsmuster der MGFP mit einem und zwei Signalpeaks

Ein weiterer Schwerpunkt dieser Arbeit lag im Vergleich der zeitlichen Dynamik der simultan erfassten ECoG- und MEG-Veränderungen. Anhand des Verlaufs der MGFP wurde ein Zeitbereich ermittelt, in dem eine signifikante Zu- und Abnahme der Magnetfeldstärke zu verzeichnen war. Dieser Zeitbereich, hier als MEG-Signalbereich bezeichnet, wurde in Beziehung zum ECoG-Signalbereich gesetzt. Bezüglich des MGFP-Verlaufs konnten Verlaufsmuster mit einem und zwei Signalmaxima (Peaks) beschrieben werden. Inter- und

intraindividuell wurden sowohl nach kaudaler, lateraler und rostraler Reizung MGFP-Verläufe mit einem bzw. zwei Peaks beobachtet; ein direkter Zusammenhang zwischen der Anzahl der Peaks und dem Reizort bzw. den Propagationsmustern im ECoG konnte nicht nachgewiesen werden. Zwischen den Reizmodalitäten konnten keine Unterschiede bezüglich der MEG-Veränderungen und der MGFP-Verlaufsmuster nachgewiesen werden, so dass auch nach KCl-Reizung intra- und interindividuell Verläufe mit ein oder zwei Peaks beschrieben werden konnten.

Das Magnetfeld wird durch intrakortikale Ströme verursacht (Okada et al. 1988). Daher kann eine Zunahme der Magnetfeldstärke bzw. ein Anstieg der MGFP mit einer zunehmenden Intensität der zugrunde liegenden kortikalen Ströme korrelieren. Da vom MEG Magnetfelder tangential verlaufender intrazerebraler Stromanteile erfasst werden (Cohen and Cuffin 1983) und diese Anteile mit zunehmender Ausbreitung der SD-Welle größer werden, kann folglich ein Anstieg der MGFP beobachtet werden. Zudem ist erst bei zunehmender räumlicher Ausdehnung des SD-Ereignisses das eingesetzte Antennenarray in der Lage, derartig kleine Magnetfelder zu erfassen. Davor löschen sich diese an einer einzelnen Antenne aus. Die zunehmende Propagation mit stärker werdenden Strömen tangential zur Hirnoberfläche führt somit zu einer Zunahme der Signalintensität, die sich in einem Anstieg der MGFP und folglich einem Peak widerspiegelt. In dieser Arbeit wurden am häufigsten (n=12) Signalveränderungen mit zwei Peaks beobachtet, so dass der Verlauf der Propagation demzufolge mit einer zweimaligen Zu- und Abnahme der Signalintensität einhergehen kann. Verschiedene Ursachen können dem Auftreten eines zweiten Peaks zugrunde liegen. Bei Eintritt der SD-Welle in den Sulcus saggitalis ändert sich die Ausrichtung eines wesentlichen Anteils der intrakortikalen Ströme in Beziehung zur Hirnoberfläche und der Anteil der tangential verlaufenden Ströme, der maßgeblich zum Magnetfeld beiträgt, steigt deutlich an. Somit könnte eine nochmalige Zunahme der Magnetfeldstärke in einem Richtungswechsel wesentlicher Anteile intrakortikaler Ströme begründet sein. Bowyer et al. zeigten in ihren Untersuchungen am linsencephalen Gehirn, dass bei Eintritt der SD-Welle in den Sulcus saggitalis aufgrund der Ausrichtung der zugrunde liegenden Ströme eine Zunahme des Magnetfeldes beobachtet werden kann (Bowyer et al. 1999a). Nach lateraler Reizung propagierte die Wellenfront in Richtung Sulcus saggitalis; in drei von sechs Messungen (mit zwei Peaks) wurde jedoch ein zweiter Peak erfasst, obwohl die Welle den Sulcus offensichtlich noch nicht erreichte. Somit scheinen dem Auftreten eines weiteren Peaks verschiedene Mechanismen zugrunde zu liegen. Denkbar wäre, dass die SD-Wellenfront in ihrem Verlauf auf kortikale Areale trifft, v.a. solcher mit hoher Neuronendichte und hoher

Zellaktivität, wodurch eine erneute Zunahme der Signalintensität hervorgerufen wird. Gardner-Medwin et al. erklärten das Auftreten entsprechender MEG-Veränderungen mit einem „Bruch“ in der symmetrischen Propagation der SD-Welle, der 1. in der Geometrie des Kortex und 2. in dem Eintreten der SD in Regionen wie die Area retrosplenialis, in denen diese nur erschwert initiiert werden kann, begründet sein kann (Gardner-Medwin et al. 1991). Somit scheint nicht nur die voranschreitende Propagation ein messbares Magnetfeld zu bewirken, auch die Propagation in kortikale Areale unterschiedlicher Morphologie könnte ursächlich für eine nochmalige Zunahme der Magnetfeldstärke und somit der Signalintensität sein. Die zugrunde liegenden Mechanismen, die erst zu einem Abfall der MGFP mit anschließendem erneuten Anstieg führen, müssen in weiteren Studien untersucht werden. Umso bedeutsamer ist das MEG als ergänzende Methode, um die kortikal ablaufenden Prozesse und begleitenden Ströme im Rahmen einer SD über der gesamten Hemisphäre ausreichend zu charakterisieren. Ereignisse mit mehreren Peaks scheinen daher Ausdruck der Komplexität des Ausbreitungsprozesses zu sein. Ringer beschrieb im Rahmen von Perinfarktdepolarisationen am Modell der Ratte ebenfalls MGFP-Verläufe mit einem und mehreren Peaks (Promotion Ringer 2004), ohne jedoch Hinweise für deren Auftreten liefern zu können. Zusammenfassend könnte das Auftreten einer oder mehrerer Signalpeaks durch folgende Faktoren bedingt sein: 1. ein Richtungswechsel der SD-Wellenfront mit Zunahme der tangential zur Hirnoberfläche verlaufenden Stromanteile, z.B. bei Eintritt in den Sulcus saggitalis und 2. die Propagation der SD-Welle in verschiedenen, in ihrer Histologie unterschiedlichen kortikalen Arealen (Bowyer et al. 1999b, Gardner-Medwin et al. 1991). Anhand der Verteilung der Isomagnetfeldlinien kann mit steigender MGFP bzw. zum Zeitpunkt des Peaks eine zunehmende bzw. maximale Dichte der ein- und austretenden Magnetfeldlinien beobachtet werden. Mit Hilfe der „Rechten-Hand-Regel“ kann zu diesem Zeitpunkt die Richtung des Hauptanteiles des kortikal fließenden Stromes bestimmt werden. So konnte z.B. für einige Messungen nach kaudaler Reizung eine Propagation in kaudorostrale Richtung zum Zeitpunkt des Peaks beschrieben werden. Dies stand jedoch nicht im Vordergrund dieser Arbeit und sollte in nachfolgenden Untersuchungen näher analysiert werden.

4.5.2. MEG-Verläufe ohne signifikanten MGFP-Anstieg

Auffallend war, dass v.a. nach kaudaler elektrischer Reizung kein signifikanter Anstieg der MGFP beobachtet werden konnte. Die Signalverläufe in mindestens fünf Kanälen zeigten in diesen Messungen nur positive bzw. negative Amplitudenausschläge, während in den übrigen Kanälen kaum Abweichungen von der Nulllinie beobachtet wurden. Die Antennen waren hier so über dem Rattenkortex positioniert, dass entweder nur ein- oder austretende Magnetfeldlinien erfasst wurden. Da der Schwerpunkt in der zeitlichen Analyse der MEG- und ECoG-Veränderungen lag, wurde in diesen Fällen der MEG-Zeitbereich anhand des Auftretens signifikanter positiver oder negativer Signaländerungen in drei Kanälen ermittelt. Die resultierenden Zeitbereiche waren mit denen der MGFP-Zeitbereiche vergleichbar.

4.6. Zeitliche Beziehungen der Veränderungen im ECoG und MEG

Die Untersuchung der zeitlichen Beziehungen der ECoG- und MEG-Veränderungen sind relevant, um einen zeitlichen Bezug zwischen den kortikal ablaufenden Prozessen bei SD und den von außen erfassten Signalen im MEG herzustellen. Dies gilt v.a. dann, wenn das MEG als nichtinvasive Methode allein zum Einsatz kommt. Dabei muss berücksichtigt werden, dass aus o.g. Gründen erst mit zunehmender Ausbreitung der SD-Welle ein Anstieg der Magnetfeldstärke beobachtet werden kann, so dass abhängig vom Abstand Reizort-Elektrodenarray entweder das ECoG oder das MEG zuerst das Auftreten einer SD signalisieren. Im Folgenden sollen daher die zeitlichen Beziehungen der simultan erfassten ECoG- und MEG-Veränderungen näher beleuchtet werden. Voraussetzung für die Analyse der zeitlichen Dynamik war die Ermittlung eines ECoG- bzw. MEG-Signalbereiches, in welchem signifikante Potentialänderungen bzw. eine Zu- und Abnahme der Magnetfeldstärke messbar waren.

4.6.1. Zeitliche Beziehungen der ECoG- und MEG-Veränderungen nach kaudaler Reizung

Bei 10 von 13 Ereignissen nach kaudaler KCl-Reizung wurden simultan SD-assoziierte Signalveränderungen im ECoG und im MEG erfasst. Da im MEG Veränderungen über der gesamten Kortexoberfläche gemessen werden können und das ECoG den kortikal ablaufenden Prozess nur innerhalb eines definierten Areales erfasst, waren im MEG

Signalveränderungen über einen längeren Zeitraum messbar. So betrug die mittlere Signaldauer 245 ± 36 s im ECoG bzw. 362 ± 136 s im MEG. Bei Auftreten zweier Signalpeaks in der MGFP resultierten dementsprechend längere Zeiträume, was u.a. die größere Streuung der Zeitintervalldauer erklärt. Auffällig war, dass nach KCl-Reizung bei allen Ereignissen zuerst MEG-Veränderungen erfasst wurden, bevor 104 ± 66 s nach Beginn des MEG-Signales Veränderungen im ECoG zu verzeichnen waren. Ursächlich ist der relativ große Abstand zwischen Reizort (KCl-Bohrloch) und Elektrodenarray. Bereits vor dem Elektrodenarray treten Depolarisationen auf, welche jedoch aus messtechnischen Gründen im ECoG nicht erfasst wurden. Nach 242 ± 108 s konnten in unserer Studie Magnetfelder nach KCl-Applikation erfasst werden, d.h. zu diesem Zeitpunkt muss die Ausbreitung der SD so weit vorangeschritten sein, dass eine Zunahme der Magnetfeldstärke nachweisbar war. Gardner-Medwin et al. beobachteten 300-500 Sekunden nach KCl-Applikation entsprechende MEG-Signale (Gardner-Medwin et al. 1991), so dass hier vergleichbare Ergebnisse beschrieben werden können.

Ein Vergleich von ECoG und MEG zeigt einerseits, dass das SD-Ereignis über einen langen Zeitraum durch beide Verfahren erfasst werden kann. Andererseits zeigen die vorliegenden Ergebnisse, dass das MEG einen großen Anteil des im ECoG nachgewiesenen Ereignisses widerspiegelt. Das Auftreten der MGFP-Peaks stand jedoch in keiner festen zeitlichen Beziehung zu den ECoG-Zeitbereichen. In vier Ereignissen lag mindestens ein Peak vor dem ECoG-Bereich; in einer Messung wurden sogar beide Peaks vor dem ECoG-Bereich detektiert. Somit scheint die Intensität des Signales und der Ionenströme bereits vor Erfassung der SD durch das ECoG sehr stark gewesen zu sein. Bei vier Ereignissen lagen die MGFP-Peaks innerhalb des ECoG-Signalebereiches, so dass das Magnetfeld während des im ECoG gemessenen Ereignisses maximal war. Auch hier ließen sich im ECoG keine Hinweise finden, die das Auftreten eines zweiten Peaks erklären würden. In vier von zehn Ereignissen überdauerte der MEG-Signalebereich den ECoG-Bereich, wobei in zwei Messungen der zweite MGFP-Peak hinter dem ECoG-Bereich lag. Dies verdeutlicht, dass ein nochmaliger Anstieg der Signalintensität zu verzeichnen war, was durch das ECoG nicht mehr erfasst wurde.

Nach kaudaler elektrischer Reizung konnten aufgrund eines fehlenden signifikanten MGFP-Anstieges keine Peaks beschrieben werden, so dass sich die zeitliche Analyse auf den MEG- und ECoG-Bereich beschränkt. Aufgrund der Distanz von 2 mm zwischen Reizelektroden und Array konnten nach elektrischer Reizung frühzeitig ECoG-Veränderungen erfasst werden. Der Beginn der MEG-Veränderungen lag im Mittel 53 ± 25 s nach dem Beginn der ECoG-Veränderungen. In sieben der neun Ereignisse, in denen sowohl ECoG- als auch MEG-

Veränderungen gemessen wurden, überdauerte der MEG-Bereich den ECoG-Bereich, so dass auch hier der Gesamtprozess nicht mit dem ECoG allein beschrieben werden kann.

4.6.2. Zeitliche Beziehungen der ECoG- und MEG-Veränderungen nach lateraler und rostraler Reizung

Bei allen im ECoG erfassten SD-Ereignissen nach lateraler Reizung konnten korrelierend MEG-Veränderungen gemessen werden. Die Signaldauer im ECoG und MEG war mit 244 ± 10 s bzw. 244 ± 45 s annähernd gleich. In acht der neun Ereignisse lag der Beginn der ECoG-Veränderungen 66 ± 30 s vor dem Beginn der MEG-Veränderungen. Kapitel 3.4.2. kann entnommen werden, dass in sechs Messungen das SD-Ereignis über 50% des Gesamtzeitbereiches und damit über einen langen Zeitraum simultan durch ECoG und MEG erfasst wurde. Bei vier von sechs Messungen mit zwei Signalpeaks lag der Zeitpunkt des zweiten Peaks im Bereich des Endes der ECoG-Veränderungen. Bei Ausbreitung der SD in latero-mediale Richtung nach lateraler Reizung könnte man eine Zunahme des Magnetfeldes bzw. einen zweiten Signalpeak nach dem Ende der ECoG-Veränderungen erwarten, da die SD-Welle hier weiter in Richtung Sulcus saggitalis verlaufen müsste (s. 4.5.1.). Bowyer et al. zeigten, dass der Eintritt der SD in den Sulcus eine Zunahme des Magnetfeldes zur Folge hat (Bowyer et al. 1999a). Dies ist mit einer veränderten räumlichen Orientierung wesentlicher kortikaler Strukturen, wie z.B. den Pyramidenzellen, in Relation zur Gesamthirnoberfläche und damit verbundenen starken tangential ausgerichteten Strömen vergesellschaftet, so dass der zweite Peak im MEG in diesen Fällen u.a. mit einem möglichen Richtungswechsel der SD-Welle erklärt werden könnte. Interessanterweise wurde nur in einer von sechs Messungen mit zwei Signalpeaks der zweite Peak am Ende bzw. nach den ECoG-Veränderungen gemessen. In den übrigen Messungen lag auch nach lateraler Reizung der zweite Peak innerhalb des ECoG-Bereiches und somit entfernt vom potentiellen Eintritt der SD-Welle in den Sulcus saggitalis. Daher scheinen dem Auftreten der Peaks im MEG neben der veränderten Orientierung der tangential verlaufenden Stromanteile noch weitere Mechanismen zugrunde zu liegen. Möglicherweise spielt die Propagation in morphologisch unterschiedliche kortikale Strukturen eine größere Rolle als bisher vermutet.

Nach rostraler elektrischer Reizung zeigten drei von vier Ereignissen simultane ECoG- und MEG-Veränderungen, anhand derer die zeitliche Dynamik interpretiert werden konnte. Das Auftreten der MGFP-Peaks lag stets innerhalb des ECoG-Signalebereiches, wobei in zwei Messungen nur ein relativ kurzer MEG-Zeitbereich beobachtet wurde.

4.7. Erkenntnisse aus simultaner ECoG- und MEG-Messung

Aufgrund der oben beschriebenen zeitlichen Dynamik des Auftretens der ECoG- und MEG-Veränderungen zeigen diese Ergebnisse, dass durch Anwendung beider Methoden unterschiedliche Informationen gewonnen werden können. Mit Hilfe des 16-Kanal-ECoGs können die zeitlichen und räumlichen Propagationsmuster, v.a. in Abhängigkeit vom Reizort, detailliert beschrieben werden. Die Aussagen beziehen sich jedoch auf ein räumlich begrenztes Areal. Das Elektrodenarray bedeckte in der vorliegenden Studie jedoch ein zur Gesamtoberfläche relativ großes kortikales Areal von 3,75x3,75 mm mit Kortexabschnitten unterschiedlicher Zytoarchitektur und Funktion. Mit dem MEG werden nunmehr Prozesse der gesamten Hirnoberfläche erfasst. Der MEG-Signalverlauf war häufig durch das Auftreten von ein oder zwei Peaks gekennzeichnet, wobei das Auftreten derartiger Peaks 1. in keiner festen zeitlichen Beziehung zum ECoG-Signalsbereich stand und 2. teils vor und teils nach dem ECoG-Bereich erfasst wurde. Die Intensität des Signales konnte somit ein Maximum erreichen, obwohl das Ereignis durch das Elektrodenarray noch nicht bzw. nicht mehr gemessen wurde. Mit Hilfe des MEGs kann daher der Gesamtprozess über der Kortexoberfläche zeitlich erfasst werden; für eine umfassende Charakterisierung von SDs, wie sie hier vorgenommen wurde, ist es jedoch allein nicht geeignet. Den unterschiedlichen Propagationsmustern im ECoG konnten in der vorliegenden Arbeit keine spezifischen MEG-Signalverläufe zugeordnet werden, so dass die zeitlich-räumliche Propagation in Abhängigkeit vom Ursprungsort der SD mit dem MEG allein nicht erfasst werden kann. Weitere Gründe für die Grenzen des MEG ergeben sich aus den biophysikalischen Eigenschaften. Die Stärke des Magnetfeldes ist von der Intensität der kortikalen Ströme abhängig, die tangential zur Oberfläche ausgerichtet sind, da nur diese von den senkrecht zur Oberfläche stehenden Spulen erfasst werden (Cohen and Cuffin 1983). Erst mit zunehmender Ausbreitung der Depolarisationswelle (und zunehmender Distanz des Dipols zueinander) kann ein Anstieg der Magnetfeldstärke gemessen werden. Diese „zeitliche Verzögerung“ zwischen dem kortikal ablaufenden Prozess und den im MEG erfassten Veränderungen muss bei der alleinigen Detektion von SDs mittels MEG berücksichtigt werden, zumal das MEG als nichtinvasives Verfahren zur Erfassung von SDs beim Menschen im Vordergrund steht.

4.8. Methodenkritische Diskussion

Um der klinischen Situation näher zu kommen, wurden Untersuchungen am in-vivo-Tiermodell durchgeführt. Die Untersuchung von Spreading Depolarisations am Modell der Ratte ist in der Literatur weit verbreitet und wurde auch in unserer Studie angewandt. Es wurden Messungen an ausgewachsenen Versuchstieren vorgenommen, wobei die Schwelle für die Auslösung einer SD mit zunehmendem Alter sinkt und die Amplitude der negativen Potentialänderung gleichzeitig steigt (Somjen 2001). Sowohl die Schrumpfung des Extrazellularraumes als auch die Ausreifung des Transmittersystems mit dem Alter sollen eine wesentliche Rolle spielen (Lehmenkühler und Richter 1993, Luhmann et al. 1993). Durch kontinuierliche Kontrolle der physiologischen Parameter bei einigen Tieren (n=5) konnte sichergestellt werden, dass die gewählten Versuchsbedingungen nicht zu wesentlichen Abweichungen im Säure-Basen-Haushalt, der Blutgaszusammensetzung und der Körpertemperatur führen und somit die Propagation beeinträchtigen werden. Da v.a. Temperaturschwankungen Einfluss auf die Propagationsgeschwindigkeit nehmen (Takaoka et al. 1996), wurden narkosebedingte Wärmeverluste durch Lagerung des Versuchstieres auf einer Wärmeplatte ausgeglichen.

Weiterhin muss auf die Narkosebedingungen eingegangen werden. Die Anästhesie wurde mit Halothan per inhalationem eingeleitet; nach Abschluss der Präparationsarbeiten wurde diese durch intraperitoneale Gabe von Chloralose und Urethan fortgeführt. Halothan führt durch Verschluss der gap junctions zu einer Verzögerung der Propagation oder kann diese sogar verhindern (Somjen 2001). Die Sedierung mit Halothan wurde daher 45 Minuten vor Auslösung des Ereignisses beendet, so dass ein möglicher Einfluß auf die Propagation durch Narkotika weitgehend ausgeschlossen werden konnte. Chloralose und Urethan beeinträchtigen hingegen die SD-Ausbreitung nicht (Piper and Lambert 1996), sodass die Anwendung dieser Substanzen im Weiteren als geeignet erschien.

Vielfältige Stimuli können eine SD triggern. In dieser Arbeit wurden SDs durch kortikale Stimulation mit KCl oder durch tetanische elektrische Reizung hervorgerufen. In diesem Zusammenhang muss berücksichtigt werden, dass allein die Präparation, v.a. die Kraniotomie, in Form von mechanischem Druck sowie durch Freisetzung von Kalium bei Zerstörung größerer Zell- und Gewebeverbände eine SD triggern kann, die messtechnisch nicht erfasst wurde. Durch Veränderung des umgebenden Milieus und somit der Aktivität beeinträchtigter oder gar zerstörter Zellen kann der Verlauf der SD-Welle ebenfalls beeinflusst werden. Dieses Problem war im Vorfeld der Untersuchung bekannt und es wurde versucht, dieses durch ein

mikrochirurgisches Vorgehen einschließlich kontinuierlichen Spülens mit physiologischer Kochsalzlösung bei der Trepanation zu minimieren.

Die Applikation von KCl auf den Kortex erfordert versuchstechnische Voraussetzungen, um eine Überflutung des Extrazellarraumes mit Kalium und eine damit verbundene permanente Zellschädigung mit terminaler Depolarisation zu vermeiden. Die kontrollierte Zu- und Abfuhr der 0,3 molaren Kaliumlösung über das Push-Pull-System und anschließende Spülung mit NaCl erwiesen sich daher als günstig. Die tetanische elektrische Stimulation führt durch die Zelldepolarisation ebenfalls zu einer Erhöhung der extrazellulären Kaliumkonzentration. Gorelova et al. zeigten, dass bei wiederholter SD-Auslösung im Abstand von 5 Minuten durch zunehmende Störung der Ionenhomöostase und Zellschädigungen eine irreguläre Propagation mit Reduktion der Ausbreitungsgeschwindigkeit sowie eine reduzierte Anzahl an gemessenen Depolarisationen auftreten (Gorelova et al. 1987). Um derartige Einflüsse auf die Propagation zu vermeiden, lag in der vorliegenden Studie zwischen den Messungen ein Mindestabstand von 30 Minuten.

Messungen über einen mittleren Zeitraum von 18 ± 6 min ermöglichten lange Beobachtungszeiten. Nach dem SD-Ereignis war meist keine weitere signifikante Potentialänderung zu verzeichnen. Vier Messungen zeigten nach kaudaler Reizung ein zweites Ereignis, welches ebenfalls die Kriterien einer SD erfüllte. Da ein Zusammenhang mit dem von uns eingesetzten Reiz nicht bewiesen werden kann, wurde dieses nicht in die weitere Auswertung einbezogen. Denkbar wäre jedoch, dass auch nach einmaliger Reizung aufeinanderfolgende Depolarisationen auftreten könnten oder eine Phase folgt, in der spontan wieder ein Ereignis ausgelöst wird. Aus der Literatur geht hervor, dass nach einer Refraktärzeit von 1 – 3 min das Gewebe erneut für eine SD empfindlich ist (Leão 1947). Zwischen den hier beobachteten Ereignissen lag ein mittleres Zeitintervall von $3,72 \pm 2$ min.

Das 16-Kanal-ECoG, in dem die Elektroden in einem 4x4 Gitter angeordnet waren, ermöglicht die Erfassung elektrischer Potentialänderungen in einem relativ zur Oberfläche des Rattengehirns großen kortikalen Areal ($3,75 \times 3,75$ mm). Durch die hohe räumliche Auflösung kann die SD in Regionen unterschiedlicher Zytoarchitektur und Funktion beobachtet werden. In vorangegangenen Studien wurden entweder nur einzelne oder lineare Elektrodenanordnungen zur Beschreibung der Propagation angewandt (Referenzen in Somjen 2001), so dass die vorliegende Arbeit eine differenzierte Analyse des zeitlichen und räumlichen Verlaufs der Depolarisationswelle erlaubt. Mit Ausnahme der Messungen nach lateraler elektrischer Reizung wurden nicht unter allen Elektroden des Arrays Depolarisationen gemessen. Einerseits könnten elektrochemische Prozesse an den Elektroden

für die fehlende Detektion verantwortlich sein. Andererseits müssen Alterationen des Kortex im Rahmen der Präparation mit Gewebeschädigungen in Erwägung gezogen werden.

Da im ECoG ausschließlich Aussagen über die Ausbreitung der SD in einem begrenzten Areal getroffen werden können, liefert die simultane Anwendung des MEGs zusätzliche Informationen. Hier können Veränderungen über der gesamten Hirnoberfläche erfasst werden. Durch den Einsatz speziell für Tierversuche entwickelter Antennen mit, im Vergleich zu konventionellen Systemen, kleinen Durchmessern und deren Anordnung in einem 4x4 Array wurde bei gleichzeitig hoher Empfindlichkeit eine hohe räumliche Auflösung erreicht. Das 16-Kanal-SQUID-System des Biomagnetischen Zentrums in Jena besitzt eine hohe Sensitivität (20-25 fT/ $\sqrt{\text{Hz}}$) und wurde für die Messung kleinvolumiger Magnetfeldquellen konzipiert (Nowak et al. 1999). Durch den spezifischen Aufbau konnte der Abstand zwischen dem biologisch aktivem Gewebe und der Detektionsspule in unseren Versuchen auf ca. 6 mm reduziert werden und somit die Empfindlichkeit des Systems deutlich gesteigert werden.

Trotz aktiver und passiver Abschirmung der Messapparatur konnten Störsignale nicht vollständig eliminiert werden. Entsprechende Kanäle wurden somit nicht in die weitere Auswertung einbezogen. Ebenso konnten mit Hilfe der Hauptkomponentenanalyse lang anhaltende Trends, die mit hoher Wahrscheinlichkeit nicht mit dem zu untersuchenden Ereignis in Zusammenhang standen, erfasst werden. Da diese vereinzelt den Hauptanteil des Signales darstellten, wurde dieser Anteil durch Nichtberechtigung der 1. Hauptkomponente eliminiert und somit von der weiteren Signalanalyse ausgeschlossen. Als mögliche Quelle derartiger Magnetfeldveränderungen seien z.B. Verletzungsströme in der Umgebung des geschädigten Gewebes nach Kraniotomie genannt.

4.9. Schlussfolgerung

Aus vorangegangenen Studien ist bekannt, dass die Propagation einer Spreading Depolarisation in Abhängigkeit vom Reizort unterschiedlich sein kann. Durch Reizung in drei verschiedenen kortikalen Arealen spezifizieren die Ergebnisse dieser Arbeit, dass die Ausbreitung aufgrund der lokalen Morphologie durch homogene oder inhomogene, komplexere Verlaufsformen gekennzeichnet ist und die Depolarisation die beteiligten kortikalen Strukturen keineswegs gleichermaßen erfasst. Dabei kann eine Bevorzugung der lateralen Kortexareale beobachtet werden, die sich sowohl im Ausmaß der Depolarisation als auch in der Homogenität der Propagation widerspiegelt.

Durch simultane Erfassung der Spreading Depolarisations im MEG kann der Prozess weitaus umfassender beschrieben werden. Trotz der vielfältigen Ausbreitungsmuster im ECoG bei Reizung in verschiedenen Arealen können anhand der MGFP wiederkehrende Verlaufsmuster mit ein oder zwei Peaks beschrieben werden, die unabhängig von einem bestimmten Reizort immer wieder nachweisbar waren. Die detaillierte Darstellung der zeitlichen Dynamik zwischen elektrischen und magnetischen Veränderungen in dieser Arbeit zeigt, dass die zeitlichen Verläufe von Spreading Depolarisations nur durch simultane Anwendung von ECoG und MEG umfassend charakterisiert werden können. Das Ereignis kann zwar über einen langen Zeitraum gleichzeitig im ECoG und MEG erfasst werden, jedoch kann der zeitliche Verlauf des Gesamtprozesses anhand der sich nicht überschneidenden Zeitbereiche präzisiert werden. Somit können durch simultane Anwendung von ECoG und MEG ergänzende Informationen gewonnen werden. Interessant ist, dass auch intraindividuell Muster mit einem oder zwei Peaks im MEG beobachtet werden können, die in keiner festen Beziehung zu den Veränderungen im ECoG stehen. Somit scheinen der Propagation durch das häufige Auftreten mehrerer Peaks im MEG bisher nicht geklärte Mechanismen zugrunde zu liegen.

Die hier erarbeiteten zeitlichen Beziehungen zwischen elektrischen und magnetischen Veränderungen, v.a. unter Berücksichtigung der Morphologie, können auch im Hinblick auf die nichtinvasive Messung von SDs im MEG beim Menschen genutzt werden. Da Spreading Depolarisations in der Pathogenese der zerebralen Ischämie oder der Migräneaura vermutet werden, wird die Erfassung von SDs zunehmend an Bedeutung gewinnen. Somit bedarf es weiteren Untersuchungen zur räumlichen und zeitlichen Propagation und den hervorgerufenen Veränderungen im MEG, um SDs zukünftig umfassend beschreiben zu können.

5. Literaturverzeichnis

Amemori T, Gorelova NA, Bures J (1987) Spreading depression in the olfactory bulb of rats: reliable initiation and boundaries of propagation. Neuroscience **22**(1):29-36.

Amzica F and Steriade M (2002) The functional significance of K-complexes. Sleep Med Rev **6**(2): 139-49.

Ayata C, Shimizu-Sasamata M, Lo EH, Noebels JL, Moskowitz MA (2000) Impaired neurotransmitter release and elevated threshold for cortical spreading depression in mice with mutations in the $\alpha 1A$ subunit of P/Q type calcium channels. Neuroscience **95**(3): 639-45.

Ayata C (2010) Cortical spreading depression triggers migraine attack: pro. Headache **50**(4): 725-30.

Back T, Kohno K and Hossmann KA (1994a) Cortical negative DC deflections following middle cerebral artery occlusion and KCl- induced spreading depression: effect on blood flow, tissue oxygenation, and electroencephalogram. J Cereb Blood Flow Metab **14**(1): 12-9.

Balestrino M, Young J and Aitken PG (1999) Block of $(Na^+, K^+)ATPase$ with ouabain induced spreading depression-like depolarization in hippocampal slices. Brain Res **838**: 37-44.

Basarsky TA, Duffy SN, Andrew RD and MacVicar BA (1998) Imaging sprading depression and associated intracellular calcium waves in brain slices. J Neurosci **18**: 7189-7199.

Baysal, U and Hauseisen J (2002) Modeling the Spreading Cortical Depression Wavefront. Ann NY Acad Sci **972**: 127-132.

Bowyer SM, Okada YC, Papuashvili N, Moran JE, Barkley GL, Welch KM, Tepley N (1999a) Analysis of MEG signals of spreading cortical depression with propagation constrained to a rectangular cortical strip I. Lissencephalic rabbit model. Brain Res **843**: 71-78.

Bowyer SM, Tepley N, Papuashvili N, Kato S, Barkley GL, Welch KMA, Okada YC (1999b) Analysis of MEG signals of spreading cortical depression with propagation constrained to a rectangular cortical strip II. Gyrencephalic swine model. Brain Res **843**: 79-86.

Bowyer SM, Aurora KS, Moran JE, Tepley N, Welch KM (2001) Magnetencephalic fields from patients with spontaneous and induced migraine aura. Ann Neurol **50**(5): 582-7.

Bowyer SM, Mason KM, Moran JE, Tepley N, Mitsias PD (2005) Cortical hyperexcitability in migraine patients before and after sodium valproate treatment. J Clin Neurophysiol **22**(1): 65-7.

Bowyer SM, Shvarts V, Moran JE, Mason KM, Barkley GL and Tepley N (2012) Slow Brain Activity (ISA/DC) Detected by MEG. J Clin Neurophysiol **29**: 320-326.

Brand S, Fernandes de Lima VM, Hanke W (1998) Pharmacological modulation of the refractory period of retinal spreading depression. N-s Arch Pharmacol **357**(4): 419-25.

Bures J, Petràn M and Zachar J (1967) Electrophysiological methods in biological research. Prague, Academia, Publishing House of the Czechoslovak Academy of Science.

Bures J, Buresová O and Krivánek J (1974) The mechanism and applications of Leao's spreading depression of electroencephalographic activity. Prague: Academia.

Bures J, Buresová O and Krivánek J (1984) The meaning and significance of Leao's spreading depression. Ann Acad Bras Cienc **56**: 385-400.

Cohen D (1968) Magnetencephalography: evidence of magnetic fields produced by alpha rhythm currents. Science **161**: 784-786.

Cohen D and Cuffin BN (1983) Demonstration of useful differences between magnetencephalogram and electroencephalogram. Electroencephalogr Clin Neurophysiol **56**(1): 38-51.

Collewijn H and Van Harreveld A (1966) Membrane potential of cerebral cortical cells during spreading depression and asphyxia. Exp Neurol **15**: 425-436.

Davies JA, Annels SJ, Dickie BGM, Ellis Y, Knott NJ (1995) A comparison between the stimulated and paroxysmal release of endogenous amino acids from cerebellar, striatal and hippocampal slices: a manifestation of spreading depression? J Neurol Sci **131**: 8-14.

De Oliveira Castro G and Martins-Ferreira H (1970) Deformations and thickness variations accompanying spreading depression in the retina. J Neurophysiol **33**: 891-

Dichgans M, Freilinger T, Eckstein G et al. (2005) Mutation in the neuronal voltage-gated sodium channel SCN1A in familial hemiplegic migraine. Lancet **366**: 371-7.

Dietzel I, Heinemann U, Lux HD (1989) Relations between slow extracellular potential changes, glial potassium buffering, and electrolyte and cellular volume changes during neuronal hyperactivity in cat brain. Glia **2**(1): 25-44.

Dreier JP, Vajkoczy P, Bohner G, Graf R, Vatter H, Sakowitz OW, Martus P, Dohmen C, Sarrafzadeh A, Scheel M, Major S, Woitzik J (2013) „Spreading Depolarization“ bei Migräneaura und Schlaganfall im menschlichen Gehirn. J Neuro Neurochir Psychiatr **14**(1): 8-17.

Eiselt M, Gießler F, Platzek D, Haueisen J, Zwiener U, Röther J (2004) Inhomogeneous propagation of cortical spreading depression – detection by electro- and magnetoencephalography in rats. Brain Res **1028**: 83-91.

Fabricius M, Jensen LH and Lauritzen M (1993) Microdialysis of interstitial amino acids during spreading depression and anoxic depolarization in rat neocortex. Brain Res **612**: 61-69.

Fagaly RL (1990) Neuromagnetic instrumentation. In: Sato, S (ed.) *Advances in Neurology: Magnetencephalography*. New York, Raven Press. **54**: 11-32.

Fifková E (1964) Spreading EEG depression in the neo-, paleo- and archicortical structures of the brain of the rat. Physiol Bohemoslov **13**: 1-15.

Gabbott PL and Stewart MG (1987) Distribution of neurons and glia in the visual cortex (area 17) of the adult albino rat: a quantitative description. Neurosci **21**: 833-845.

Gardner-Medwin AR (1981) Possible roles of vertebrate neuroglia in potassium dynamics, spreading depression and migraine. J Exp Biol **95**: 111-127.

Gardner-Medwin AR, Tepley N, Barkley GL, Moran J, Nagel-Leiby S, Simkins RT and Welch KM (1991) Magnetic fields associated with spreading depression in anaesthetized rabbits. Brain Res **540**(1-2): 153-8.

Gardner-Medwin AR, van Bruggen N, Williams SR and Ahier RG (1994) Magnetic resonance imaging of propagating waves of spreading depression in the anaesthetized rat. J Cereb Blood Flow Metab **14**(1): 7-11.

Godukhin OV and Obrenovitch TP (2001) Asymmetric propagation of spreading depression along the anteroposterior axis of the cerebral cortex in mice. J Neurophysiol **86**(4): 2109-2111.

Gorelova NA and Bures J (1983) Spiral waves of spreading depression in the isolated chicken retina. J Neurobiol **14**: 353-363.

Gorelova NA, Krivanek J and Bures J (1987) Functional and metabolic correlates of long series of cortical spreading depression waves in rats. Brain Res **404**(1-2): 379-81.

Gorji A, Scheller D, Straub H, Tegtmeier F, Köhling R, Höhling JM, Tuxhorn I, Ebner A, Wolf P, Werner Panneck H, Oppel F, Speckmann EJ (2001) Spreading depression in human neocortical slices. Brain Res **906**(1-2): 74-83.

Grafstein B (1956) Mechanism of spreading cortical depression. J Neurophysiol **19**: 154-171.

Grafstein B (1963) Neuronal release of potassium during spreading depression. In: Brain Function, vol. 1 (ed. M.A.B. Brazier), pp. 87-116. Berkeley, University of California.

Green JD and Petsche H (1961) Hippocampal electrical activity. IV. Abnormal electrical activity. Electroenceph Clin Neurophysiol **13**: 868-879.

Hansen AJ and Lauritzen M (1984) The role of spreading depression in acute brain disorders. Ann Acad Bras Cienc **56**(4): 457-79.

Haueisen J, Ramon C, Czapski P, Eiselt M (1995) On the influence of volume currents and extended sources on neuromagnetic fields: a simulation study. Ann Biomed Eng. **23**(6): 728-39.

Haueisen J, Ramon C, Eiselt M, Brauer H and Nowak H (1997) Influence of tissue resistivities on neuromagnetic fields and electric potentials studied with a finite element model of the head. IEEE Trans Biomed Eng **44**(8):727-35.

Haueisen J, Tuch DS, Ramon C, Schimpf PH, Wedeen VJ, George JS and Belliveau JW (2002) The influence of brain tissue anisotropy on human EEG and MEG. Neuroimage **15**(1): 159-66.

Herreras O, Largo C, Ibarz JM, Somjen GG and Martin Del Rio R (1994) Role of neuronal synchronizing mechanism in the propagation of spreading depression in the in vivo hippocampus. J Neurosci **14**: 7087-7098.

Hertz L (1978) An intense potassium uptake into astrocytes , its further enhancement by high concentrations of potassium, and its possible involvement in potassium homeostasis at the cellular level. Brain Res **145**: 202-208.

Hossmann KA (1987) Pathophysiology of cerebral infarction. In: Vinken, PJ, et al. (eds.) Handbook of Clinical Neurology. Amsterdam, Elsevier. **53**: 107-153

Jurkat-Rott K, Freilinger T, Dreier JP et al. (2004) Variability of familial hemiplegic migraine with novel A1A2 Na⁺/K⁺-ATPase variants. Neurol **62**: 1857-61.

Kager H, Wadman WJ, Somjen, GG (2002) Conditions for the triggering of spreading depression studied with computer simulations. J Neurophysiol **88**(5): 2700-12.

Kastner J, Fuchs M and Wagner M (2002) Artifact Removal with Principal and Independent Component Analysis. Proceedings of BIOMAG 2002, 13th International Conference on Biomagnetism, Jena, VDE Verlag GmbH, Berlin: 1018-1020.

Koroleva VI and Bures J (1979) Circulation of cortical spreading depression around electrically stimulated areas and epileptic foci in the neocortex of rats. Brain Res **173**(2): 209-215.

Kraig RP and Nicholson C (1978) Extracellular ionic variations during spreading depression. Neuroscience **3**(11): 1045-59.

Kuffler SW, Nicholls JG, Orkand RK (1966) Physiological properties of glial cells in the central nervous system of amphibia. J Neurophysiol **29**(4): 768-87.

Largo C, Cuevas P, Somjen GG, Martin Del Rio R and Herreras O (1996) The effect of depressing glial function in rat brain in situ on ion homeostasis, synaptic transmission and neuron survival. J Neurosci **16**: 1219-1229.

Lashley KS (1941) Patterns of cerebral integration indicated by the scotomas of migraine. Arch Neur Psych **46**(2): 331-339.

Lauritzen M, Olsen TS, Lassen NA, Paulson OB (1983) Regulation of regional cerebral blood flow during and between migraine attacks. Ann Neurol **14**: 569-572.

Lauritzen M (1987) Cerebral blood flow in migraine and cortical spreading depression. Acta Neurol Scand Suppl **113**.

Lauritzen M and Hansen AJ (1992) The effect of glutamate receptor blockade on anoxic depolarization and cortical spreading depression. J Cereb Blood Flow Metab **12**(2): 223-9.

Lauritzen M (1994) Pathophysiology of the migraine aura. The spreading depression theory.

Brain **117**: 199-210.

Lauritzen M (2001) Cortical spreading depression in migraine. Cephalalgia **21**(7): 757-60.

Leão AAP (1944) Spreading depression of activity in the cerebral cortex. J Neurophysiol **7**: 359-390.

Leão AAP and **Morison RS** (1945) Propagation of spreading cortical depression. J Neurophysiol **8**: 33-45.

Leão AAP (1947) Further observations on the spreading depression of activity in the cerebral cortex. J Neurophysiol **10**: 409-414.

Leão AAP (1963) On the spread of spreading depression. In: Brain Function. Cortical Excitability and Steady Potentials, edited by **Brazier MAB**. Berkeley: Univ. of California Press: 73-85.

Lehmenkühler A, **Richter F** (1993) Distribution of spreading depression in upper and lower depths of the rat cerebral cortex and its possible implications on the type of human migraine. In: **Lehmenkühler A**, **Grottemeyer KH**, **Tegtmeier F** (eds) (1993) *Migraine: basic mechanisms and treatment*. Urban & Schwarzenberg, München Berlin Wien, pp 267-278.

Leibowitz DH (1992) The glial spike theory. I. On an active role of neuroglia in spreading depression and migraine. Proc R Soc Lond B Biol Sci **250**: 287-295.

Luhmann HJ, **Kral T**, **Heinemann U** (1993) Influence of hypoxia on excitation and GABAergic inhibition in mature and developing rat neocortex. Exp Brain Res **97**(2): 209-24.

Marshall WH (1959) Spreading cortical depression of Leão. Physiol Rev **39**: 239-279.

Martins-Ferreira H, **De Oliveira Castro G**, **Stuchiner CJ**, **Rodrigues PS** (1974) Liberation of chemical factors during spreading depression in isolated retina. J Neurophysiol **37**: 785-91.

Martins-Ferreira H, **De Oliveira Castro G**, **Stuchiner CJ**, **Rodrigues PS** (1974) Circling spreading depression in isolated chick retina. J Neurophysiol **37**: 773-84.

Martins-Ferreira H (1994) Spreading depression: a neurohumoral reaction. Brazilian J Med Biol Res **27**: 851-863.

Martins-Ferreira H, **Nedergaard M**, **Nicholson C** (2000) Perspectives on spreading depression. Brain Res Rev **32**(1): 215-34.

Milner PM (1958) Note on a possible correspondence between the scotomas of migraine and spreading depression of Leão. Electroencephalogr Clin Neurophysiol **10**(4): 705.

Nedergaard M and Hansen AJ (1988) Spreading depression is not associated with neuronal injury in the normal brain. Brain Res **449**(1-2): 395-8.

Nedergaard M and Hansen AJ (1993) Characterization of cortical depolarizations evoked in focal cerebral ischemia. J Cereb Blood Flow Metab **13**(4): 568-74.

Nedergaard M, Cooper AJ, Goldman SA (1995) Gap junctions are required for the propagation of spreading depression. J Neurobiol. **28**(4): 433-44.

Nicholson C and Kraig RP (1975) Chloride and potassium changes measured during spreading depression in catfish cerebellum. Brain Res **96**: 384-389.

Nicholson C (1984) Comparative neurophysiology of spreading depression in the cerebellum. Ann Acad Bras Cienc **56**(4): 481-94.

Nowak H, Giessler F, Huonker R, Hauelsen J, Röther J and Eiselt M (1999) A 16-channel SQUID-device for biomagnetic investigations of small objects. Med Eng Phys **21**(8):563-8.

Obrenovitch TP and Zilkha E (1995) High extracellular potassium and not extracellular glutamate is required for the propagation of spreading depression. J Neurophysiol **73**: 2107-2114.

Ochs S (1962) The nature of spreading depression in neural networks. Int Rev Neurobiol **4**: 1-70.

Okada YC, Lauritzen M and Nicholson C (1988) Magnetic field associated with spreading depression: a model for the detection of migraine. Brain Res **442**(1): 185-90.

Orkand RK, Nicholls JG and Kuffler SW (1966) Effect of nerve impulses on the membrane potential of glial cells in the central nervous system of amphibian. J Neurophysiol **29**(4): 788-806.

Pavlásek J, Haburcák M, Masánová C, Orlický J (1993) Increase of catecholamine content in the extracellular space of the rat's brain cortex during spreading depression wave as determined by voltammetry. Brain Res **628** (1-2): 145-8.

Petsche H, Rappelsberger P, Frey Z, Suchatzki BU (1973) The epileptogenic effect of ouabain (g-strophanthin). Its action on the EEG and cortical morphology. Epilepsia **14**(2): 243-60.

Piper RD and Lambert GA (1996) Inhalational anesthetics inhibit spreading depression: relevance to migraine. Cephalalgia **16**: 87-92.

Platzek D, Nowak H, Giessler F, Röther J and Eiselt M (1999) Active shielding to reduce low frequency disturbances in direct current near biomagnetic measurements. Rev Sci Instrum **70**: 2465.

Richter F und Lehmenkühler A (2008) Cortical spreading depression (CSD) Ein neurophysiologisches Korrelat der Migräneaura. Schmerz **22**(5):544-550.

Ringer Thomas Michael (2004) Zerebrale Perininfarktdepolarisation: zeitliche und topographische Dynamik in simultaner Magnetencephalographie und Elektrokortikographie nach Mediaokklusion bei der Ratte [Dissertation]. Jena: Friedrich-Schiller-Universität.

Scheller D, Heister U, Dengler K, Tegtmeier F (1991) Extracellular changes of aspartat and glutamate during generation and propagation of cortical spreading depression in rats. In: Olesen J, Cerebral blood flow in migraine, tension-type headache and cluster headache. New York: Raven Press.

Somjen GG (1975) Electrophysiology of neuroglia. Ann Rev Physiol **37**: 163-190.

Somjen GG (1979) Extracellular potassium in the mammalian central nervous system. Ann Rev Physiol **41**: 159-177.

Somjen GG, Aitken PG, Czéh G, Herreras O, Jing J, Young JN (1992) The mechanism of spreading depression: a review of recent findings, and a hypothesis. Can J Physiol Pharmacol **70**, Suppl: S248-254.

Somjen GG (2001) Mechanism of spreading depression and hypoxic spreading depression-like depolarization. Physiol Rev **81**(3): 1065-96.

Somjen GG, Kager H, Wadman WJ (2008) Computer simulations of neuron-glia interactions mediated by ion flux. J Comput Neurosci **25**(2): 349-65.

- Strong** AJ, Smith SE, Whittington DJ, Meldrum BS, Parsons AA, Krupinski J, Hunter AJ, Patel S, Robertson C (2000) Factors influencing the frequency of fluorescence transients as markers of peri-infarct depolarizations in focal cerebral ischaemia. Stroke **31**:214-222.
- Strong** AJ, Fabricius M, Boutelle MG, Hibbins SJ, Hopwood SE, Jones R, Parkin MC, Lauritzen M (2002) Spreading and Synchronous Depressions of Cortical Activity in Acutely Injured Human Brain. Stroke **33**: 2738-2743.
- Takaoka** S, Pearlstein RD, Warner DS (1996) Hypothermia reduces the propensity of cortical tissue to propagate direct current depolarizations in the rat. Neurosci Lett **218**(1): 25-8.
- Trachtenberg** MC and Pollen DA (1969) Neuroglia: biophysical properties and physiologic function. Science, N.Y. **167**: 1248-1252
- Van den Maagdenberg** AM, Pietrobon D, Pizzorusso T et al. (2004) A Cacna1a knockin migraine mouse model with increased susceptibility to cortical spreading depression. Neuron **41**: 701-10.
- Van Harreveld** A (1959) Compounds in brain extracts causing spreading depression of cerebral cortical activity and contraction of crustacean muscle. J Neurochem **3**: 300-315.
- Van Harreveld** A and Fifková E (1973) Mechanism involved in spreading depression. J Neurobiol **4**(4): 375-87.
- Van Harreveld** A (1978) Two mechanisms for spreading depression in the chicken retina. J Neurobiol **9**: 419-431.
- Vinogradova** LV, Koroleva VI, Bures J (1991) Re-entry waves of Leao's spreading depression between neocortex and caudate nucleus. Brain Res **538**: 161-164.
- Vogt** BA (1984) Cingulate cortex. In: E.G. Jones, A. Peter (Eds.), Cerebral Cortex, vol. 4, Plenum Press, New York, pp. 89-149.
- Walz** W and Wuttke WA (1989) Resistance of astrocyte electrical membrane properties to acidosis changes in the presence of lactate. Brain Res **504**(1): 82-6.
- Williams** JA (1970) On the origin of transmembrane potentials in non-excitabile cells. J theoret Biol **28**:287-296.

Wise SP and Donoghue JP (1984) Motor cortex of rodents. In: E.G. Jones, A. Peter (Eds.), Cerebral Cortex, vol. 5, Plenum Press, New York, pp. 243-270.

Zilles K (1985) The cortex of the rat – a stereotactic atlas. Berlin, Heidelberg, New York, Tokio, Springer Verlag.

Danksagung

Mein besonderer Dank gilt Hr. PD Dr. Michael Eiselt für die Bereitstellung des Themas und die exzellente Betreuung von Beginn der Auswertung der Daten bis zur Erstellung des Manuskriptes. Ich habe die Ruhe und Geduld, mit der er stets bereit war, aufkommende Fragen zu diskutieren, sowie seine konstruktive Kritik sehr geschätzt. Dank ihm habe ich zu keiner Zeit die Motivation und das Interesse am Thema verloren.

Vor allem danke ich Hr. Dr. Ralph Huonker sowie Hr. Dr. Frank Giessler für die Einführung in das CURRY-Programm und die fortwährende Hilfe bei der Auswertung der Daten im Biomagnetischen Zentrum Jena.

Meiner Familie danke ich für den Rückhalt und die Geduld, die sie während der Fertigstellung dieser Arbeit aufbringen mussten.

Meinen Eltern, Kerstin und Hans-Joachim Wings, danke ich von Herzen, dass sie mir mein Studium ermöglicht und mich stets motiviert haben.

Lebenslauf

Name: Winges, Sabrina

Geburtsdaten: 27. September 1981 in Eisenach

Schulische Ausbildung:

1988 – 1992 Grundschule in Förtha

1992 – 2001 Ernst-Abbe-Gymnasium Eisenach

1998 – 1999 Auslandsaufenthalt Port Huron High School, Michigan, USA

2001 Allgemeine Hochschulreife

Studium:

2001 – 2009 Studium der Humanmedizin Friedrich-Schiller-Universität Jena

09/2006 – 01/2007 Urlaubssemester

02/2007 – 11/2007 Elternzeit

2007 – 2008 Praktisches Jahr:

Klinik für Innere Medizin, Bad Salzungen

Klink für Allgemein-, Viszeral- und Gefäßchirurgie, Bad Salzungen

Klinik für Hals-Nasen-Ohren-Heilkunde, Bad Salzungen

30.04.2009 Ärztliche Prüfung

Beruflicher Werdegang:

seit 08/2009 Assistenzärztin der Klinik für Innere Medizin,

Klinikum Bad Salzungen

Oberellen, den 07.05.2015

Ehrenwörtliche Erklärung

Hiermit erkläre ich, dass mir die Promotionsordnung der Medizinischen Fakultät der Friedrich-Schiller Universität bekannt ist,

ich die Dissertation selbst angefertigt habe und alle von mir benutzten Hilfsmittel, persönlichen Mitteilungen und Quellen in meiner Arbeit angegeben sind,

mich folgende Personen bei der Auswahl und Auswertung des Materials sowie bei der Herstellung des Manuskripts unterstützt haben:

Herr PD Dr. Michael Eiselt, Dekanat FSU Jena; Herr Dr. Ralph Huonker und Herr Dr. Frank Giessler, Biomagnetisches Zentrum Jena,

ich die Hilfe eines Promotionsberaters nicht in Anspruch genommen habe und dass Dritte weder unmittelbar noch mittelbar geldwerte Leistungen von mir für Arbeiten erhalten haben, die im Zusammenhang mit dem Inhalt der vorgelegten Dissertation stehen,

dass ich die Dissertation noch nicht als Prüfungsarbeit für eine staatliche oder andere wissenschaftliche Prüfung eingereicht habe und

dass ich die gleiche, eine in wesentlichen Teilen ähnliche oder eine andere Abhandlung nicht bei einer anderen Hochschule als Dissertation eingereicht habe.

Oberellen, den 07.05.2015

Unterschrift des Verfassers

